



**Sónia Marisa Da Cruz  
Lourenço**

**Controlo e Otimização dos Processos de Produção  
da Centralrest, Lda**





**Sónia Marisa Da Cruz  
Lourenço**

**Controlo e Otimização dos Processos de Produção  
da Centralrest, Lda**

Relatório de Estágio apresentado à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia – ramo Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Ivonne Delgadillo, Professora Associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, do Doutor Jorge Saraiva, Investigador Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e da Dra. Andreia Coelho, Diretora de Produção na Centralrest, Lda.



Dedico este trabalho aos meus pais, namorado e afilhada pelo amor e incansável apoio.



**o júri**  
presidente

**Prof. Doutora Sílvia Maria da Rocha Simões Carriço**

Professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro  
(Presidente do júri)

**Prof. Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo**

Professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro  
(Orientadora)

**Prof. Doutora Ana Maria Rebelo Barreto Xavier**

Professora auxiliar da Universidade de Aveiro  
(Arguente)





## **agradecimentos**

Agradeço aos meus orientadores, Doutora Ivonne Delgadillo, Doutor Jorge Saraiva e Dr.<sup>a</sup> Andreia Coelho, a ajuda, disponibilidade e confiança depositada em mim ao longo da realização deste trabalho.

Agradeço à Dr.<sup>a</sup> Andreia Coelho a oportunidade de realizar este estágio curricular na Centralrest, Lda. Obrigado pelo acolhimento, pela ajuda e pela amizade.

Obrigado ao Dr. Nuno Lobo e aos meus orientadores pela confiança e oportunidade de poder trabalhar num tema que tanto prazer me deu.

Agradeço à Eng<sup>a</sup> Carla Teixeira o acolhimento, os ensinamentos, a confiança e o apoio.

Agradeço à Frip pela amostra de Lagosta fornecida e por toda a colaboração. Especial obrigado ao Dr. Luís Salgado pelo interesse demonstrado no meu trabalho e por toda a disponibilidade.

Agradeço ao grupo de Alta Pressão, nomeadamente à Liliana, ao Mauro, ao Rui e à Diana por toda a ajuda, disponibilidade e pelo apoio técnico.

A todos os meus amigos, em especial à Raquel, à Rita e à Inês obrigado pela bonita amizade que criamos, pela entreajuda, pelo companheirismo e pela motivação. Obrigado à minha patroa pelo apoio não só na escrita mas também ao longo destes últimos 6 anos de grande amizade. Obrigado à Cláudia, à Sónia Pedro, à Soraia e aos meus emigrantes favoritos (Carlos, João e Zé) pela paciência, pela companhia e motivação nos dias fulcrais. É um orgulho ter amigos assim.

Agradeço aos colegas e amigos do QOPNA e grupo de bioquímica alimentar, nomeadamente à Anne Marie, à Catarina e ao Mikael pela amizade, pela motivação, ajuda e boa disposição e à Dr.<sup>a</sup> Dulce Helena pelo auxílio técnico.

Agradeço ao meu namorado toda a ajuda, apoio e todo o amor. Mesmo longe não senti nunca a falta do teu abrigo. Obrigado.

Agradeço à minha afilhada Maria por me proporcionar momentos maravilhosos ao longo deste último ano.

E por fim, e não menos importante, agradeço aos meus pais por todo o amor e por me terem permitido seguir o rumo académico que mais desejava. Vocês são uma inspiração para mim.



*“Põe quanto és no mínimo que fazes”*  
Ricardo Reis



## **Palavras-chave**

Refeições prontas, Controlo e Gestão de Qualidade, Lagosta, Melanose, Polifenoloxidase, Conservação de Alimentos, Pasteurização, Centralrest, Lda.

## **Resumo**

O presente trabalho descreve as atividades desenvolvidas na realização do estágio curricular na Centralrest, Lda. O trabalho desenvolvido envolveu o controlo e otimização dos processos de produção, debruçando-se sobre questões de qualidade e segurança alimentar. Foram definidos como objetivos gerais do estágio: (1) a inserção nas atividades da empresa de forma a conhecer os deveres e obrigações de um responsável de produção; (2) verificar o cumprimento da legislação alimentar em vigor; (3) otimizar o programa de pasteurização empregue às refeições produzidas; e (4) estudar o problema de escurecimento observado na produção de refeições prontas incluindo lagosta selvagem. Pretendeu-se com o estudo da lagosta avaliar o impacto do tempo e da temperatura de processamento na atividade da PPO, e a aceitabilidade das diferentes amostras produzidas.

Na empresa, toda a linha de produção é gerida de forma a respeitar as melhores práticas de segurança e qualidade alimentar, sendo atualmente realizados controlos com base na implementação do sistema HACCP. Verificou-se que a temperatura de confeção final é em média superior a 75 °C, cumprindo o limite estabelecido. A otimização do tempo de processamento é possível se a subida de temperatura for considerada no cálculo. Relativamente à lagosta, verifica-se que o aumento do tempo de processamento conduz a uma diminuição da atividade enzimática, o que indica que as enzimas sofreram uma inativação progressiva. No entanto, embora o processamento industrial usualmente empregue pela indústria seja suficiente para garantir a segurança alimentar, não é suficiente para prevenir a melanose em lagosta. No geral, o arrefecimento de produtos congelados ocorre de forma lenta, no entanto, a temperatura final de -18 °C é sempre atingida, permitindo garantir a suspensão de toda a atividade microbiana.



**Keywords**

Ready meals, Management and Control of Quality, Lobster, melanosis, Polyphenoloxidase, Food Preservation, Pasteurization, Centralrest, Lda.

**Abstract**

The present work describes the activities undertaken during the curricular internship at Centralrest, Ltd. The developed work involved the control and optimization of the production process, focusing on the topics of food safety and quality. The major goals of this internship were: (1) the integration in the company's activities, in order to understand the role of a production manager; (2) verify the compliance with the current food legislation; (3) optimize the pasteurization process applied to the produced meals; (4) study the enzymatic browning observed on the production of ready-to-eat meals containing wild lobster. The wild lobster study aimed to evaluate the impact of the processing time and temperature on the activity of the PPO, and on the acceptability of the different produced samples.

In the company all the production line is managed respecting all the good practices of food safety and quality, with controls, based on the implementation of the HACCP system, being currently conducted. It was verified that the final production temperature is, in average, higher than 75 °C, being in accordance with the limit established by law. The optimization of the processing time is possible if the rise in temperature is considered in the calculation. Regarding the lobster, an increase in the processing time leads to a decrease in the enzymatic activity, showing that the enzymes suffer a progressive inactivation. However, although the industrial processing usually applied is enough to guarantee food safety and quality, it is not sufficient to prevent melanosis in wild lobster. Overall, the cooling of frozen products occurs slowly, but the final temperature of -18 °C is always reached, ensuring the interruption of all microbiological activity.





# Índice

Índice .....	i
Índice de Figuras .....	iii
Índice de Tabelas .....	v
Lista de Abreviaturas .....	vi
1. Estágio curricular Centralrest, Lda .....	7
1.1 Apresentação da empresa – Centralrest, Lda .....	7
1.2 Objetivos do estágio .....	8
2. Introdução .....	9
3. Estado da Arte .....	11
3.1 Conservação de Alimentos .....	11
3.1.1 Fatores que determinam a estabilidade dos alimentos .....	12
3.1.2 Tecnologias de Conservação de Alimentos .....	13
3.1.3 Processamento térmico .....	14
3.1.3.1 Pasteurização .....	18
3.1.4 Conservação a baixas temperaturas - Congelação e Refrigeração .....	19
3.1.5 Microrganismos nos Alimentos .....	22
3.2 Qualidade e Segurança Alimentar .....	24
3.2.1 O <i>Codex Alimentarius</i> no setor Alimentar .....	24
3.2.2 HACCP .....	26
3.2.3 Código de boas práticas .....	27
3.3 Lagosta Selvagem .....	27
3.3.1 Espécie <i>Palinurus</i> .....	29
3.3.2 Composição nutricional .....	30
3.3.3 Alterações bioquímicas .....	32
3.3.3.1 Escurecimento Enzimático .....	32
3.3.3.2 Digestão Proteolítica .....	34
3.3.3.3 Oxidação Lipídica .....	34
4. Materiais e Métodos .....	39
4.1 Acompanhamento dos processos de produção .....	39
4.1.1 Registo das temperaturas de confeção .....	40
4.1.2 Registo do abatimento da temperatura dos produtos ultracongelados .....	40
4.2 Pasteurização .....	41
4.2.1 Otimização das Pasteurizações .....	41
4.3 Processamento de lagosta selvagem .....	42
4.3.1 Análise Enzimática .....	42
4.3.1.1 Determinação da atividade proteolítica .....	43
4.3.1.2 Determinação da atividade da PPO .....	43
4.3.2 Análise da Oxidação Lipídica .....	44
4.3.2.1 Determinação do teor de malonaldeído .....	44
4.3.3 Análise Sensorial .....	44
4.3.4 Análise Estatística .....	45
5. Resultados e Discussão .....	47
5.1 Acompanhamento dos processos de produção .....	47
5.1.1 Registo das temperaturas de confeção .....	48
5.1.2 Arrefecimento da temperatura dos produtos ultracongelados .....	51
5.1.3 Desenvolvimento de documentos de fabrico .....	54
5.1.4 Otimização das Pasteurizações .....	54
5.2 Processamento de lagosta selvagem .....	58
5.2.1 Análise Enzimática .....	60
5.2.1.1 Atividade Proteolítica .....	60
5.2.1.2 Atividade PPO .....	60
5.2.2 Análise da Oxidação Lipídica .....	61

5.2.2.1 Determinação do teor de malonaldeído .....	61
5.2.3 Análise Sensorial .....	62
6. Conclusão .....	65
7. Trabalho Futuro .....	67
Referências Bibliográficas.....	69
Anexo A - Mapa das Instalações da Centralrest, Lda.....	73
Anexo B - Refeições Prontas, pasteurizadas e ultracongeladas produzidas pela Centralrest, Lda. ....	74
Anexo C - Sumários dos registos dos binómios (t, T) da confeção .....	76
Anexo D - Arrefecimento de produtos ultracongelados .....	78
Anexo E - Exemplo Procedimento de Operação.....	80
Anexo F - Base de dados UPs.....	81
Anexo G - Número de reduções decimais atingidas nas várias refeições estudadas .....	82
Anexo H - Aspeto das amostras de Lagosta utilizadas para a análise enzimática .....	84
Anexo I - Resultados da Análise Enzimática .....	86
Anexo J - Aspeto das amostras de lagosta utilizadas para a determinação do teor de MDA .....	87
Anexo K - Resultados da determinação do teor de MDA .....	88
Anexo L - Folha de Prova .....	89
Anexo M - Resultados da análise sensorial .....	90

# Índice de Figuras

Figura 1 Logotipo da Centralrest, Lda [1].	7
Figura 2 Efeito da atividade de água no crescimento microbiano, nas reações químicas e enzimáticas que ocorrem nos alimentos, adaptado [11].	13
Figura 3 Curva de destruição térmica, adaptado [8].	15
Figura 4 Curva de morte térmica, adaptado [8].	16
Figura 5 Valor de D em função da temperatura de processamento, adaptado [12].	17
Figura 6 Influência da temperatura na duração da fase lag [9].	23
Figura 7 Princípios que regem o sistema HACCP, adaptado [31, 33].	27
Figura 8 Principais características da anatomia externa de uma lagosta (vista lateral), adaptado [34].	29
Figura 9 Distribuição das espécies de Lagosta, <i>Palinurus gilchristi</i> e <i>Palinurus delagoae</i> , ao longo das plataformas continentais marítimas da África do Sul, Moçambique e Madagáscar, no oceano Índico [36].	30
Figura 10 Vista dorsal do género <i>P. delagoae</i> [37].	30
Figura 11 Melanose em lagosta recém-cortada processada (A) aspeto inicial t=0 (B) aspeto após 3 horas [46, 47].	32
Figura 12 Reações catalisadas pela PPO (a) hidroxilação e (b) oxidação, adaptado [51].	33
Figura 13: Ação dos radicais livres na oxidação lipídica. Etapas da autooxidação: (1) Iniciação; (2) Propagação e (3) Terminação, adaptado [66]. RH – lípido instaurado; R' – Radical lipídico; ROO' – radical peróxido lipídico; ROOH – hidroperóxido lipídico; RR, ROO – produtos estáveis.	36
Figura 14 Principais etapas do processo produtivo da empresa Centralrest, Lda.	39
Figura 15 Equipamentos utilizados para o registo dos binómios (t,T): Waterproof Testo Thermometer IP67 (esquerda); Testo Datalogger T172-T2 (direita).	40
Figura 16 Fotografias do pasteurizador LAINOX (esquerda) e do pasteurizador JUMO (direita).	41
Figura 17 Tarefas desempenhadas durante o estágio na Centralrest, Lda.	48
Figura 18: Temperaturas de confeção dos produtos: 1. Origem vegetal e à base de vegetais (■ à base de legumes; □ de origem vegetal).	49
Figura 19: Temperaturas de confeção dos produtos: 2. Produtos à base de Carne (▨ cozidos, guisados ou estufados de Carnes; ▩ à base de carnes e vegetais/leguminosas; ▪ à base de carnes e produtos lácteos; ▧ à base de carne frita ou grelhada e pão);	50
Figura 20 Temperaturas de confeção dos produtos: 3. Produtos à base de peixe (▤ à base de peixe e produtos lácteos; ▥ cozidos, guisados ou estufados de produtos de mar; ▦ à base de peixe c/ elevado teor de gordura).	51
Figura 21: Temperatura média inicial para os vários registos recolhidos.	52
Figura 22: Abatimento de temperatura de produtos ultracongelados de origem vegetal e à base de vegetais: ■ tempo médio que demora a atingir os 10 °C; ■ tempo médio que no total demora atingir os -18 °C.	53
Figura 23: Abatimento de temperatura de produtos ultracongelados à base de Carne: ■ tempo médio que demora a atingir os 10 °C; ■ tempo médio que no total demora atingir os -18 °C.	53
Figura 24: Abatimento de temperatura de produtos ultracongelados à base de Peixe: ■ tempo médio que demora a atingir os 10 °C; ■ tempo médio que no total demora atingir os -18 °C.	54
Figura 25: Tempo de processamento do produto Bacalhau com Natas 5,0 kg (T≥ 70 °C): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.	56
Figura 26: Tempo de processamento dos produtos Creme de Alho Francês 2,5 kg e Creme Cenoura 2,5 kg (T≥ 70 °C): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.	56
Figura 27: Tempo de processamento dos produtos Lasanha de Carne 2,0 kg, Moelas de Frango 2,0 kg, Almôndegas 2,0kg e Bacalhau c/ Natas 2,0kg (T≥ 70 °C): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.	57
Figura 28: Tempo de processamento dos produtos Lasanha de Carne 1,0kg e Almôndegas 1,0kg (T≥ 70 °C): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.	57

Figura 29: Tempo de processamento dos produtos Creme de Cenoura 300g, Bacalhau com Natas 300g, Arroz de Pato 300g e Bacalhau à Brás 300g ( $T \geq 70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.....	58
Figura 30: Variação da temperatura interna da Lagosta durante a descongelação prévia de 24h. ....	59
Figura 31 Variação da temperatura interna durante a confeção: (a) Processamento A; (b) Processamento B;.....	59
Figura 32 Atividade proteolítica das várias amostras analisadas. ....	60
Figura 33 Atividade relativa da PPO das diferentes amostras estudadas. ....	61
Figura 34: Concentração de MDA nas diferentes amostras analisadas. ....	62
Figura 35: Resultados da análise sumária das diferentes amostras produzidas. 1 a 7- número do provador; Escala de 1 a 9: 1. desgostei muitíssimo; 2. desgostei muito; 3. desgostei moderadamente; 4. desgostei ligeiramente; 5. nem gostei, nem desgostei; 6. gostei ligeiramente; 7. gostei moderadamente; 8. gostei muito; 9. gostei muitíssimo. ....	63
Figura A.1 Mapa do local de produção Centralrest Lda: (A) Zona de embalagem, pasteurização e arrefecimento; (B) Armazém de cartão e embalagens; (C) Câmara de produto final pasteurizado; (D e F) Cozinhas; (E) Zona de preparação; (G) Câmara de refrigerados em trânsito; (H) Economato; (I) Câmara de matéria-prima congelada; (J) Câmara de matéria-prima refrigerada; (L) Economato e (M) – Economato. ....	73
Figura H.1: Aspeto inicial da Lagosta crua, cortada e congelada. ....	84
Figura H.2: Aspeto das Lagostas utilizadas no processamento A: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita).....	84
Figura H.3: Aspeto das Lagostas utilizadas no processamento A [descongelada]: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita). ....	84
Figura H.4: Aspeto das Lagostas utilizadas no processamento B: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita).....	84
Figura H.5: Aspeto das Lagostas utilizadas no processamento B [Descongelada]: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita). ....	85
Figura H.6: Empratamento: Processamento A (esquerda) e Processamento A [Descongelada]. ....	85
Figura H.7: Empratamento: Processamento B (esquerda) e Processamento B [Descongelada]. ....	85
Figura J.1: Lagosta Crua cortada e descongelada [lote Crest]. ....	87
Figura J.2: Lagosta Crua inteira e descongelada [novo lote]. ....	87
Figura K.1: Reta de calibração usada na determinação da concentração do teor de malonaldeído. ....	88

# Índice de Tabelas

Tabela 1 Resumo das Tecnologias de Conservação de Alimentos, adaptado [16, 17].	14
Tabela 2 Fatores que influenciam a resistência aos microrganismos, adaptado [8].	17
Tabela 3 Caracterização da resistência térmica de algumas bactérias à pasteurização (valores D e z), adaptado [18, 21].	19
Tabela 4 Principais diferenças entre congelação e refrigeração, adaptado [26].	21
Tabela 5 Agrupamento de vários tipos de alimentos de acordo com a sua sensibilidade à taxa de congelação, adaptado [27].	22
Tabela 6 Classificação científica da Lagosta, adaptado [34].	28
Tabela 7 Principais diferenças entre as 4 famílias de Lagosta, adaptado [34].	28
Tabela 8 Composição nutricional geral da lagosta, adaptado [38, 39].	31
Tabela 9 Lista das refeições prontas em que foi feita a otimização do seu processamento.	41
Tabela 10 Condições de referência utilizados para a análise.	42
Tabela 11 Tipo de amostras e condições de processamento estudadas.	42
Tabela B.1 Refeições produzidas na Centralrest, Lda.	74
Tabela C.1 Número de registos e temperaturas de confeção finais registados na formulação de várias refeições prontas.	76
Tabela D.1: Produtos para os quais foi recolhidos registos do abatimento de temperatura para produtos congelados.	78
Tabela D.2 Caracterização do abatimento de temperatura dos produtos ultracongelados: tempo médio de permanência entre 10 e 60°C; Tempo médio de permanência entre 0 e -18 °C; Tempo médio total da congelação.	79
Tabela F.1 Base de dados fornecidos pela ILPRA systems Spain, adaptado.	81
Tabela G.1 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 5,0kg e 2,5kg estudadas.	82
Tabela G.2 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 2,0kg.	83
Tabela G.3 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 1,0kg estudadas.	83
Tabela G.4 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 300g estudadas.	83
Tabela I.1 Resultados da atividade proteolítica relativa (%) das várias amostras.	86
Tabela I.2 Resultados da atividade relativa da PPO (%) das diferentes amostras.	86
Tabela K.1 Concentração de MDA, no abdómen e no cefalotórax, do novo lote e Crest lote.	88
Tabela M.1: Resultados da análise sensorial realizada: caracterização das características sensoriais das diferentes amostras.	90

# Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Descrição
$a_w$	Atividade da água
$P_0$	Pressão de vapor de água pura
$P$	Pressão de vapor de água em equilíbrio com o alimento
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>D</b>	Tempo de redução decimal (min)
<b>N</b>	Concentração de microrganismos presentes num determinado tempo
<b><math>N_0</math></b>	Concentração inicial de microrganismos
<b>L</b>	Taxa de letalidade ( $\text{min}^{-1}$ )
<b>z</b>	Incremento de temperatura necessário para conseguir que o tempo de redução decimal D se reduza a 90% ( $^{\circ}\text{C}$ )
<b>TDT</b>	Tempo de morte térmica (Thermal Death Time)
<b>n</b>	Quantidade de microrganismos inicialmente presentes
<b>HTST</b>	Temperatura elevada e tempo curto (High-Temperature Short-Time)
<b><math>T_0</math></b>	Temperatura de referência
<b>F</b>	Medida do impacto do processamento
<b><math>F_0</math></b>	Valor de F para uma temperatura de referência ( $T_0$ )
<b>UP</b>	Unidade de Pasteurização
<b>ACMSF</b>	Advisory Committee on Microbiological Safety of Food
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>FAO</b>	Organização Internacional de Alimentação e Agricultura (Food & Agriculture Organization)
<b>WHO</b>	Organização Mundial de Saúde (World Health Organisation)
<b>CAC</b>	Comissão do Codex Alimentarius (Codex Alimentarius Commission)
<b>ISO</b>	Organização Internacional de Normalização (International Standards Organization)
<b>EFSA</b>	Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (European Food Safety Authority)
<b>ASAE</b>	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
<b>HACCP</b>	Análise de perigos e dos pontos críticos de controlo (Hazard Analysis and Critical Control Point)
<b>GP</b>	Código de boas práticas (Good Practice)
<b>GMP</b>	Boas práticas de produção (Good Manufacturing Practice)
<b>SEM</b>	Microscopia eletrónica de varredura (Scanning Electron Microscope)
<b>TEM</b>	Microscopia eletrónica de varredura (Transmission Electron Microscope)
<b>PPO</b>	polifenoloxidase
<b>PME</b>	Pequena e Média Empresa
<b>IAPMEI</b>	Instituto de Apoio às Pequenas e Médias Empresas e à Inovação
<b>MDA</b>	Malonaldeído
<b>TBA</b>	ácido 2-tiobarbirtúrico
<b>TCA</b>	ácido tricloroacético
<b>TMP</b>	1,1,3,3-tetrametoxipropano
<b>PCC</b>	Ponto Crítico de Controlo

# 1. Estágio curricular Centralrest, Lda

## 1.1 Apresentação da empresa – Centralrest, Lda

A centralrest, Lda, é uma pequena e média empresa (PME) portuguesa, do setor alimentar, localizada no distrito de Aveiro. Esta PME cria soluções à medida dos seus *stakeholders*, com o objetivo de responder às necessidades e exigências dos seus clientes. Para o efeito, desenvolve, produz e comercializa uma vasta linha de refeições prontas padronizadas, pasteurizadas e ultracongeladas, com elevada qualidade (Tabela B.1, Anexo B). [1-3]



Figura 1 Logotipo da Centralrest, Lda [1].

Esta empresa surgiu em 2006 com o intuito de centralizar a produção de refeições para uma cadeia de restaurantes, resultando assim na redução de custos associados (mão de obra, equipamentos), aumentando a eficácia no planeamento de produção, possibilidade de criação de *stocks*, facilidade de cumprimento de requisitos legais (referentes à segurança alimentar, instalações, equipamentos e utensílios) [2]. Inicialmente, começou por adotar a técnica *Sous vide*, uma tecnologia de origem Francesa que tem por base o embalamento dos alimentos a vácuo e a utilização de um processo térmico leve (por exemplo, 70 °C, 40 min) de forma a produzir alimentos de elevada qualidade, para os setores de restauração [4].

Atualmente, a realidade desta empresa é diferente. No decorrer dos últimos anos, a Centralrest, Lda teve que se adaptar à evolução do mercado e passou a não se centrar apenas no setor da restauração, mas sim abrir o leque de clientes dos quais constam: Sonae, Nutriva, Nutre group e Intermarché. Esta empresa explora essencialmente o

mercado nacional português mas também angolano. Paralelamente, vende também alguns dos seus produtos através da sua marca “Prato do Dia” [5].

A Centralrest, Lda é uma empresa dinâmica que aposta numa melhoria contínua dos seus produtos, na inovação, na qualificação dos seus colaboradores através de formações, na melhoria na segurança no trabalho, no melhoramento dos processos de gestão, na minimização dos impactos ambientais e na introdução de políticas de responsabilidade social. Recentemente, em 2011 foi-lhe atribuída a distinção de PME de excelência'11 pelo IAPMEI [6].

No momento, o seu sistema de gestão de qualidade é certificado pelas normas ISO 9001 e ISO 14001. Além disso, todas as etapas de produção estão de acordo com o *Codex Alimentarius*, cumprindo o plano HACCP estabelecido, boas práticas de fabrico e higiene. [2]

## 1.2 Objetivos do estágio

O presente estágio curricular é parte integrante do Mestrado em Biotecnologia Alimentar. Este estágio insere-se no âmbito de controlo e gestão de qualidade, explorando concretamente questões de qualidade e segurança alimentar. Tal como o título do trabalho indica, o trabalho desenvolvido passa pelo controlo e pela otimização dos processos de produção na Centralrest, Lda.

Como objetivos gerais do estágio incluem-se o conhecimento da estrutura organizacional, incluindo a missão, os valores e objetivos da mesma, como também a inserção nas atividades da empresa, de forma a conhecer os deveres e obrigações de um responsável de produção. Pretendem-se verificar aspetos relacionados com legislação alimentar (normas implementadas, planos HACCP), validar 2 fases do processo produtivo (confeção e o arrefecimento de produtos congelados) e otimizar o processamento empregue às refeições pasteurizadas.

Além disso, foi realizada uma investigação extra, com a finalidade de estudar o problema de escurecimento observado na produção de refeições prontas, utilizando Lagosta Selvagem. Como objetivos gerais do estudo destacam-se a avaliação do impacto do tempo e da temperatura de processamento na atividade da polifenoloxidase (PPO), na atividade proteolítica e a avaliação da aceitabilidade das diferentes amostras produzidas.

Em suma, com a realização do presente estágio curricular, era esperado adquirir uma visão concreta do funcionamento e dos desafios que uma empresa inserida na indústria alimentar enfrenta diariamente.



## 2. Introdução

No decorrer dos últimos anos, os consumidores passaram a ter uma atitude ativa em relação à escolha dos diversos produtos alimentares que consomem. São cada vez mais sofisticados e exigentes nas escolhas que fazem, estando mais atentos aos produtos que a indústria lhes oferece. O fenómeno da globalização e o desenvolvimento económico são acompanhados por mudanças de valores fundamentais. O estilo de vida dinâmico do consumidor moderno levou ao desenvolvimento de um padrão de consumo diferente, exigindo soluções práticas e inovadoras.

Com a evolução do estilo de vida, as refeições prontas têm-se tornado mais populares e apreciadas pela maioria dos consumidores, sendo uma solução prática, conveniente e de fácil utilização. O recurso a refeições prontas está maioritariamente associado à falta de tempo para cozinhar, como acontece no caso de famílias onde ambos os adultos trabalham. [7]

Genericamente, uma refeição pronta é definida como uma refeição completa que requer uma preparação mínima por parte do consumidor, sendo portanto fundamental garantir a segurança microbiológica deste tipo de produtos. No geral, uma refeição completa é composta por carne ou peixe, acompanhado com arroz, batatas ou massa. Esta combinação é comercializada em cuvetes e pode ser ou não dividida em compartimentos. [4] Incontestavelmente, as propriedades que o consumidor valoriza nos alimentos são as sensações resultantes da sua ingestão, nomeadamente as características organoléticas como sabor, aroma, textura, cor e forma. Inúmeras vezes resultam do processamento alterações não desejáveis na textura, derivadas nomeadamente da hidrólise de açúcares e das proteínas, das perdas de humidade ou de gordura, da quebra ou da formação de emulsões. Para combater este problema, a indústria recorre regularmente à adição de aditivos nos alimentos. [8]



## 3. Estado da Arte

### 3.1 Conservação de Alimentos

A conservação de alimentos remonta aos tempos mais primitivos. Desde a pré-história que o homem cria métodos para conservar os alimentos, de forma a garantir a sua sobrevivência. [9]

Intuitivamente percebem-se as razões que levam à conservação de alimentos. Esta metodologia refere-se a qualquer medida que vise garantir a segurança alimentar, bem como evitar a deterioração de um alimento e estender portanto o prazo de validade do produto. Fundamentalmente, o objetivo é manter as propriedades dos alimentos, nomeadamente a segurança microbiológica, a qualidade sensorial, nutricional e funcional. [10]

De uma forma genérica, a degradação dos alimentos resulta da ocorrência de deterioração microbiológica e de reações químicas e bioquímicas. Contudo, a deterioração dos alimentos resulta maioritariamente da contribuição dos microrganismos, uma vez que as reações enzimáticas e químicas ocorrem de forma mais lenta. A deterioração microbiológica deve-se à proliferação de microrganismos, produção de toxinas e à formação de aromas ou sabores desagradáveis. Das reações químicas, resultam o escurecimento não enzimático designado por reações de Maillard, a perda de nutrientes e a oxidação lipídica, comumente designada por rancidez ou ranço. Por fim, ocorrem reações bioquímicas associadas ao acastanhamento enzimático provocado por exemplo pela polifenoloxidase (PPO), pela hidrólise de lípidos e pela oxidação. [8, 11]

### 3.1.1 Fatores que determinam a estabilidade dos alimentos

Os parâmetros que determinam a estabilidade dos alimentos e consequentemente condicionam o crescimento microbiano são maioritariamente o pH e a atividade da água ( $a_w$ ).

O crescimento microbiano varia com o valor do pH. De acordo com as características dos microrganismos, uns podem ter mais ou menos aptidão de se desenvolver numa determinada matriz alimentar [12]. Genericamente, cada microrganismo apresenta um valor de pH ótimo: uma gama de pH em que apresenta crescimento rápido. Assim, na gama de pH acima e/ou abaixo do pH ótimo, o microrganismo não cresce ou apresenta uma taxa de crescimento muito baixa [13]. Neste sentido, o valor do pH da matriz alimentar pode influenciar de forma positiva o crescimento de determinados microrganismos, como é o caso da fruta, cujo pH ácido favorece o crescimento de leveduras [13].

No geral os alimentos são agrupados em 2 grupos fundamentais, os ácidos ( $\text{pH} < 4,5$ ) e os pouco ácidos ( $\text{pH} \geq 4,5$ ). O valor de pH 4,6 é usado como valor de referência a ter em conta no processamento de alimentos. Este limite foi estabelecido por duas razões essenciais: a primeira deve-se ao facto das bactérias não crescerem a pH inferior a 4,6; a segunda está relacionada com a gama de pH a partir da qual o *Clostridium botulinum* produz endósporos e uma toxina letal. [12, 14]

Adicionalmente, outra das condicionantes para a estabilidade é a atividade da água do próprio alimento. A consistência das características dos alimentos está estreitamente relacionada com a quantidade de água disponível para o desenvolvimento microbiano e para a atividade enzimática ou química. Mais concretamente, o que influencia a estabilidade e consequentemente o seu prazo de validade é a atividade da água do alimento.

A origem da sigla  $a_w$  deriva do inglês “activity water”. Em termos práticos a  $a_w$  é definida pelo quociente entre a pressão de vapor de água em equilíbrio com o alimento (P) a uma dada temperatura, e a pressão de vapor de água pura ( $P_0$ ) à mesma temperatura (Equação 1) [15].

$$a_w = P/P_0 \quad (\text{Equação 1})$$

A  $a_w$  interfere diretamente com os processos decorrentes na matriz dos alimentos, permitindo regular a deterioração dos alimentos. Este fator interage simultaneamente com vários fatores, como temperatura, pH, quantidade de oxigénio e dióxido de carbono disponível, o que permite regular e manipular parâmetros como atividade microbiana, reações bioquímicas e reações químicas envolvidas nos alimentos. [11]

De uma forma simplificada, existem duas estratégias clássicas para diminuir a quantidade de água disponível para o crescimento microbiano, a primeira é por remoção física da água (desidratação, evaporação, concentração, etc), e a segunda por imobilização da água na própria matriz do alimento (por exemplo através da congelação) [11]. Da manipulação desta variável, resulta a melhoria da qualidade dos produtos através de perdas nutricionais menores, admitindo também a utilização de mecanismos de controlo menos severos.

A  $a_w$  constitui uma condicionante à proliferação microbiana. Quando a  $a_w$  é inferior a 0,6, o desenvolvimento microbiológico na matriz alimentar praticamente não ocorre (Figura 2) [11]. Os fungos são os microrganismos que requerem menor quantidade de água disponível, pois crescem a partir de valores de  $a_w$  de 0,7, apresentando um valor

ótimo de  $a_w$  elevado. Seguidamente observa-se a proliferação de leveduras e bactérias produtoras de toxinas, sendo inibidas quando a  $a_w$  é inferior a 0,8.

Do ponto de vista enzimático, a estabilidade do alimento aumenta com a diminuição da  $a_w$ , resultando da diminuição da mobilidade do substrato. Deste modo, o substrato das enzimas envolvidas nos processos deixa de ser capaz de se difundir para o centro ativo [11].

No caso das reações químicas envolvidas nos sistemas alimentares, o efeito da  $a_w$  é mais complexo. As mudanças químicas de maior importância, que ocorrem em ambientes caracterizados por uma baixa  $a_w$ , são duas: reações de acastanhamento, chamadas “reações de *Maillard*” e a oxidação lipídica.

Do efeito da  $a_w$ , resulta uma variação na taxa máxima de escurecimento, para diferentes produtos (Figura 2). Genericamente, uma  $a_w$  baixa implica a diminuição na mobilidade dos reagentes envolvidos nas reações, resultando uma menor taxa de escurecimento. Isto pode ser atenuado através da utilização de antioxidantes e de agentes quelantes.

Por outro lado, uma  $a_w$  maior leva a atingir o patamar onde a taxa de escurecimento é máxima. O fenómeno ocorre devido à água ser um produto da reação de condensação e, portanto, quando a humidade atinge níveis mais elevados, o escurecimento é retardado por “inibição” do produto final, pois a água dilui os reagentes. Neste caso, a taxa de oxidação lipídica é menor, pois a hidratação e a formação de hidróxidos insolúveis levam à diminuição da atividade dos metais. [8, 11, 15]

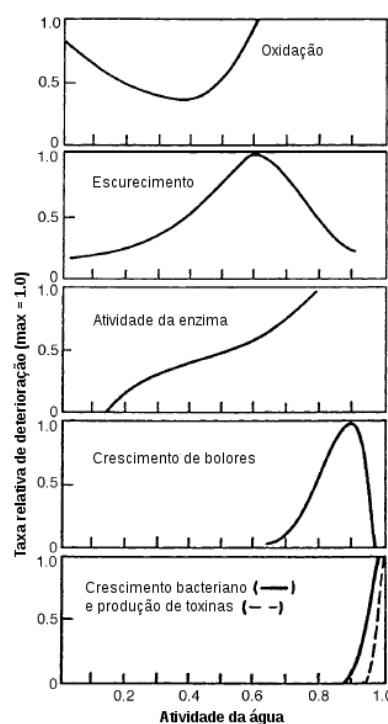


Figura 2 Efeito da atividade de água no crescimento microbiano, nas reações químicas e enzimáticas que ocorrem nos alimentos, adaptado [11].

### 3.1.2 Tecnologias de Conservação de Alimentos

A utilização do calor e do frio na conservação de alimentos remete à época da descoberta do fogo. Dos dois métodos físicos (aquecimento e arrefecimento), o mais antigo e mais amplamente utilizado é o aquecimento pela simplicidade e facilidade de execução, comparativamente ao arrefecimento [9, 10]. Fundamentalmente, as tecnologias de processamento térmico utilizadas na conservação de alimentos envolvem transferência de calor. Algumas destas metodologias envolvem o aumento de temperatura como o processamento térmico, outras a diminuição da temperatura como a refrigeração e congelação, ou mesmo sua combinação, como a evaporação, concentração, branqueamento e desidratação. [16]

A estratégia para aumentar a durabilidade alimentar e conservar os alimentos, envolve três princípios fundamentais: (1) inativação, (2) inibição e (3) evitar a

recontaminação. De acordo com o princípio adotado, existe uma vasta gama de metodologias de conservação possíveis para os mais variados produtos alimentares (Tabela 2).

Tabela 1 Resumo das Tecnologias de Conservação de Alimentos, adaptado [16, 17].

Princípio base	Método	Base de conservação
<b>Inativação dos microrganismos</b>	Branqueamento	Temperatura moderada ( $T < 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
	Cozedura	Temperatura moderada ( $T < 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
	Pasteurização	Temperatura moderada ( $T < 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
	Esterilização	Temperatura elevada ( $T > 100\text{ }^{\circ}\text{C}$ )
	Alta Pressão	Aplicação de alta pressão hidrostática
	Irradiação	Radiação ionizante
<b>Redução ou inibição do crescimento de microrganismos</b>	Embalagem em azoto/vácuo	Reduzidas concentrações de oxigénio
	Embalagem em atmosfera protetora	Elevadas concentrações de dióxido de carbono
	Refrigeração e Congelação	Valores baixos de temperatura
	Seca, cura e adição de sal	Valores de atividade da água baixos
<b>Evitar Recontaminação</b>	Processamento e embalagem em condições asséticas	Boas práticas de higiene e fabrico

A inativação de microrganismos engloba uma ampla gama de métodos de conservação, nomeadamente branqueamento, cozimento, pasteurização, esterilização, alta pressão, irradiação, entre outras. Globalmente estas metodologias compreendem o processamento térmico de alimentos através da utilização de água quente ou vapor de água [18]. A inibição do crescimento de microrganismos, tal como a inativação, pode também ser realizada de várias maneiras, por exemplo, através da manipulação de variáveis como  $a_w$ , pH, vácuo, quantidade de gases, etc. Por fim, a última estratégia a ser adotada é evitar a recontaminação através do embalamento e o cumprimento de boas práticas de fabrico e higiene, desde o manuseamento das matérias-primas até ao produto final.

### 3.1.3 Processamento térmico

O conceito de processamento térmico foi criado e desenvolvido pelo francês Nicholas Appert. Em 1908, Nicholas introduziu este novo paradigma, um método de sucesso na preservação de alimentos, conhecido por “apertização”, e atualmente designado por processamento térmico ou esterilização comercial. [18, 19]

Na indústria alimentar, o processamento térmico constitui uma das metodologias de eleição para a preservação de alimentos. Genericamente, refere-se ao tratamento de alimentos, hermeticamente fechados, com calor durante um determinado período de tempo, a uma dada temperatura, para eliminar os microrganismos patogénicos e as enzimas e/ou microrganismos deterioradores presentes. [18]

Ao processamento térmico está intimamente ligado o conceito de “processamento térmico mínimo”. Esta designação, introduzida pela FDA em 1977, refere-se à “aplicação de calor a um alimento, antes ou após o embalamento, durante um determinado período de tempo ( $t$ ) e a uma temperatura ( $T$ ) adequada, que assegure a destruição dos microrganismos perigosos para a saúde pública” [12]. Este tipo de processamento permite regular o metabolismo dos microrganismos através da desnaturação de enzimas que regulam os seus processos metabólicos, permitindo assim a sua inativação

[8, 12].

Indubitavelmente, antes de estabelecer o processo térmico, é necessário a identificação do microrganismo ou enzima mais resistente ao processo, o que requer o conhecimento da história microbiológica do produto e as condições sob as quais ele é armazenado. De seguida, deve ser avaliada a resistência térmica do microrganismo alvo, com as mesmas condições sob o qual o produto irá ser processado e comercializado. Este estudo, realizado *a priori*, deve incluir uma avaliação experimental da cinética de inativação da microflora associada. [12]

A inativação dos microrganismos segue uma cinética de primeira ordem (Figura 3) [8, 10]. O valor D (tempo de redução decimal), representado na Figura 3, corresponde à medida que indica o tempo, em minutos, necessários para reduzir a quantidade de microrganismos inicialmente presentes, de um ciclo logarítmico. Por outras palavras, refere-se à combinação de tempo e temperatura necessária para que ocorra a destruição de 90% de um determinado microrganismo na forma vegetativa e/ou esporos, de forma a garantir a segurança microbiológica. [8, 10]

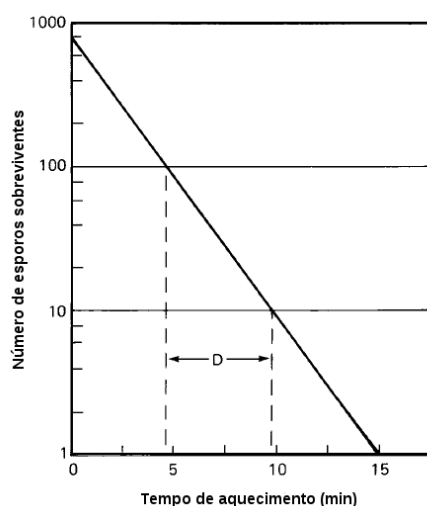


Figura 3 Curva de destruição térmica, adaptado [8].

O tempo de redução decimal é característico e difere entre espécies de microrganismos. Valores de D elevados indicam que esse tipo de microrganismo apresenta resistência térmica elevada. O valor de D varia logaritmicamente com a temperatura [3, 4].

Há que considerar uma questão importante acerca do tempo de redução decimal. Primeiro que tudo, a microflora inicialmente presente na matéria-prima difere de lote para lote. Assim, quanto maior for a carga biológica presente no produto, antes do processamento térmico, mais tempo será necessário, para que se atinja a destruição microbiana pretendida. Neste sentido, industrialmente adotam-se procedimentos de preparação adequados (boas práticas de higiene e fabrico), para assegurar uma qualidade microbiológica satisfatória e uniforme da matéria-prima, e utiliza-se uma combinação específica de tempo – temperatura ( $t, T$ ), para processar todos os lotes de um determinado produto. [8]

A cinética de inativação microbiana é de natureza logarítmica (Equação 2), onde  $N$  indica a concentração de microrganismos presentes num determinado tempo,  $N_0$  a concentração inicial de microrganismos,  $D$  o tempo de redução decimal (min), e  $t$  o tempo (min). Teoricamente é possível atingir a destruição completa após ciclos infinitos de destruição logarítmica. [8, 10]

$$\log(N) = \text{Log}(N_0) - \frac{t}{D} \text{ (Equação 2)}$$

No entanto, na prática isto é impossível. Assim, quando o alimento é aquecido a uma determinada temperatura suficientemente elevada para destruir microrganismos contaminantes relevantes, os microrganismos resultantes são quantificados em termos probabilísticos. [8]

De forma geral, a destruição de microrganismos depende da temperatura, pois quando se opera a temperaturas mais elevadas, as células morrem mais rapidamente. Representando os valores D em função da temperatura (T), pode-se traçar a curva de morte térmica, como mostrado na Figura 4. Esta curva corresponde ao tempo necessário para que ocorra destruição completa, isto é, tempo entre a última vez que se detetou microrganismos e a primeira vez que não se detetaram microrganismos. [8, 10]

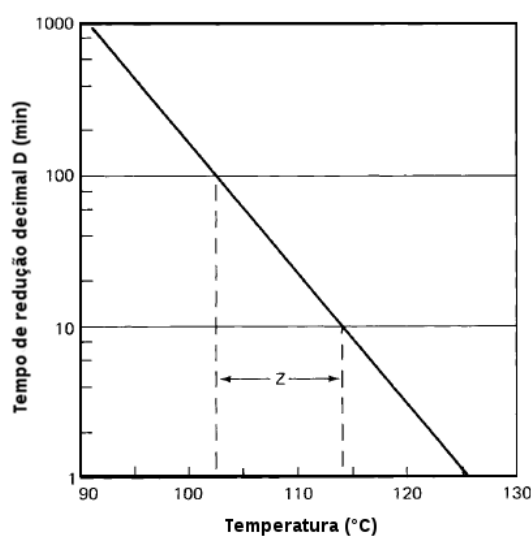


Figura 4 Curva de morte térmica, adaptado [8].

D depende da carga biológica inicial presente. Esta relação pode ser ilustrada através da reação apresentada de seguida (Equação 3), sendo n a quantidade de microrganismos inicialmente presentes.

$$TDT = nD \quad \text{(Equação 3)}$$

O valor Z, representado na curva, é utilizado para relacionar a sensibilidade à temperatura. Este valor é definido como o número de graus Celsius (°C) necessário aumentar ou diminuir para modificar 10 vezes o D. Fundamentalmente, são estas duas variáveis (D e z) que são utilizadas para caracterizar a resistência de um microrganismo ao calor e a sua dependência com a temperatura [8]. A resistência dos microrganismos ao calor depende de uma infinidade de fatores, sumariados na tabela seguinte (Tabela 2). [8]



Tabela 2 Fatores que influenciam a resistência aos microrganismos, adaptado [8].

Fator	
<b>Tipo de microrganismo</b>	Resistência ao calor varia entre as diferentes espécies e estirpes. Esporos mais resistentes ao calor do que as células vegetativas.
<b>Condições de incubação (durante o crescimento celular ou formação de esporos)</b>	i. Temperatura ii. Idade da cultura iii. Meio de cultura utilizado
<b>Condições durante o tratamento térmico</b>	i. pH do alimento ii. Atividade de água do alimento iii. Composição do alimento iv. Meio de crescimento e as condições de incubação

Tal como na destruição microbiana, a destruição de vitaminas, compostos aromáticos e pigmentos segue uma reação de primeira ordem semelhante. No geral, os valores D e z de nutrientes são maiores, comparativamente aos valores apresentados para os microrganismos e enzimas (Figura 5). [12]

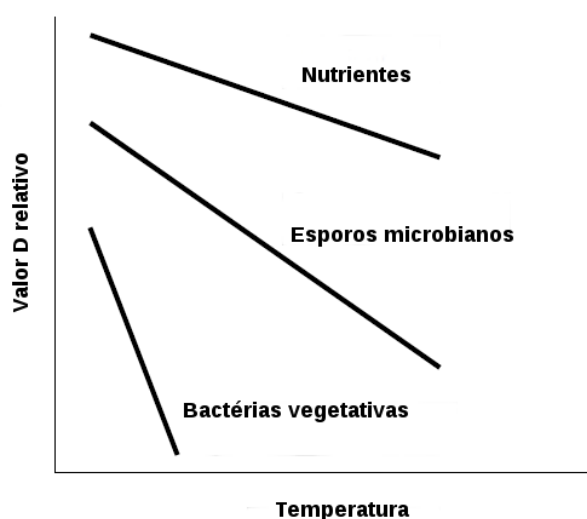


Figura 5 Valor de D em função da temperatura de processamento, adaptado [12].

Portanto, isto significa que as propriedades nutricionais e sensoriais são mais eficientemente retidas quando são empregues no processamento temperaturas mais elevadas e tempos mais curtos, chamado de processamento HTST (*High-Temperature Short-Time*). A estratégia seguida consiste em selecionar combinações específicas de tempo e temperatura ( $t, T$ ) a partir de uma curva de TDT, de forma a otimizar o processo para reter os nutrientes ou preservar as qualidades sensoriais desejadas. [8]

Consequentemente, surge a necessidade de monitorizar o impacto do processamento. A estratégia adotada consiste em avaliar o grau de destruição dos microrganismos e acompanhar a evolução dos binómios tempo-temperatura ( $t, T$ ) ao longo do processo, de forma a ter uma perceção direta do que se passou durante o processamento ao longo do tempo. O acompanhamento do binómio ( $t, T$ ) deve ser feito no ponto de aquecimento mais lento, uma vez que este corresponde à zona onde teoricamente há processamento mínimo.

Para avaliar o impacto do processamento utilizado e/ou grau de destruição dos

microrganismos calcula-se a taxa de letalidade (L). A taxa de letalidade é dada pela Equação 4, em que T representa a temperatura do ponto crítico e T<sub>0</sub> a temperatura de referência.

$$L = 10^{\frac{(T-T_0)}{z}} \quad (\text{Equação 4})$$

Para o efeito é necessário conhecer a temperatura do ponto crítico (T) e o valor de z. Por exemplo, no caso de alimentos cujo pH ≥ 4,5, usa-se como referência o *Clostridium botulinum*, para o qual z é de 10 °C e T<sub>0</sub> de 121,1°C (250 °F) [10]. No entanto, como a temperatura do ponto crítico varia com o tempo, determina-se F<sub>0</sub>, uma medida do impacto do processamento, através das Equações 5 ou 6.

$$F_0 = \int_0^t L dt \quad (\text{Equação 5})$$

$$F_0 = \sum_0^t L dt \quad (\text{Equação 6})$$

Existem vários métodos para se determinar o impacto do processamento térmico. Genericamente utiliza-se a Equação 7 para calcular o valor F, onde F<sub>0</sub> é um valor de F para uma temperatura de referência (T<sub>0</sub>).

$$F = F_0 10^{\frac{(T-T_0)}{z}} \quad (\text{Equação 7})$$

O valor F deve ser específico para cada processo e é determinado considerando os valores de referência estabelecidos, necessários para garantir a segurança e a integridade dos alimentos processados, tal como referido anteriormente. [10]

#### 3.1.3.1 Pasteurização

A Pasteurização é um dos métodos de conservação de alimentos amplamente utilizado na indústria alimentar. O objetivo deste processamento é a destruição das formas vegetativas patogénicas dos microrganismos e a inativação das enzimas [10, 12, 20]. A pasteurização é expressa em “unidade de pasteurização” (UP), que indica o tratamento térmico aplicado ao produto, equivalente a um tratamento a 60 °C durante 1 minuto. Este processamento corresponde a um tratamento térmico que ocorre a temperaturas inferiores a 100 °C, não destruindo as estruturas resistentes à temperatura, como os esporos e formas vegetativas não patogénicas. [10, 12, 20] Por este motivo, produtos pasteurizados têm de ser refrigerados obrigatoriamente após o processamento, de forma a inibir o crescimento desses microrganismos [12].

Este tipo de processamento, em alimentos cujo pH é alto (pH > 4,5), é usado para minimizar os possíveis riscos para a saúde associados a microrganismos patogénicos, de forma a estender a validade a dias. No caso de alimentos cujo pH é muito ácido (pH < 4,5), esta metodologia estende a validade não apenas a dias, mas a meses, pela inativação de enzimas e destruição de microrganismos que atuam como agentes deterioradores (como bolores e leveduras). Este processamento é caracterizado por utilizar um tratamento térmico suave, e por isso, em ambos os tipos de alimentos (ácidos ou pouco ácidos), tem efeito mínimo nas características sensoriais e nutricionais do alimento. [8, 10]

Geralmente, a indústria foca-se em garantir a segurança dos produtos pasteurizados, pois frequentemente durante a sua venda não são respeitadas as temperaturas de conservação [16]. Tal como o tempo de prateleira pode variar de alguns dias até meses, também a intensidade do tratamento térmico aplicado varia, de acordo com o tipo de

produto a processar. [8, 16]

Existe uma infinidade de produtos pasteurizados, convenientes e de elevada qualidade, servidos sob a forma de refeições prontas [18]. Genericamente as preocupações em torno das refeições prontas envolvem questões no âmbito da segurança microbiológica, associadas a microrganismos psicrotróficos patogénicos deterioradores e formadores de esporos, como o *C. botulinum*, amplamente conhecido pela indústria alimentar [10]. A resistência térmica desses microrganismos à pasteurização difere, tendo cada microrganismo um intervalo específico de valores de D e z (Tabela 3). [18, 21]

Tabela 3 Caracterização da resistência térmica de algumas bactérias à pasteurização (valores D e z), adaptado [18, 21].

Microrganismo	D <sub>65.5</sub> (min)	z (°C)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0.20-0.30	4.4-5.5
<i>Brucella spp.</i>	0.10-0.20	4.4-5.5
<i>Coxiella burnetti</i>	0.50-0.60	4.4-5.5
<i>Salmonella spp.</i>	0.02-0.25	4.4-5.5
<i>Salmonella seftenberg</i>	0.80-1.00	4.4-6.7
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.20-2.00	4.4-6.7
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0.20-2.00	4.4-6.7
Deterioradores (bactérias vegetativas, fungos, bolores)	0.50-3.00	4.4-6.7
Microrganismo	D <sub>82.0</sub> (min)	z (°C)
<i>Clostridium botulinum</i> (tipo E)	0.10-3.0	5.0-8.9

D<sub>65.5</sub> e D<sub>82.0</sub> – Valor de D (min) para a temperatura de 65.5 °C e 82.0 °C, respetivamente.

Uma vez que os microrganismos apresentam diferenças relativamente à resistência térmica, uma das etapas importantes preliminares ao tratamento é a seleção do microrganismo alvo a combater, para que a pasteurização seja eficaz. O microrganismo selecionado deve ser o microrganismo patogénico mais resistente ao processamento, de forma a assegurar uma baixa probabilidade da ocorrência deste e dos restantes microrganismos patogénicos menos resistentes ao processo. Por norma, a pasteurização implica 6 reduções decimais do microrganismo alvo. [10]

No caso da Centralrest,Lda o microrganismo patogénico mais termorresistente selecionado é o *Clostridium botulinum* do tipo B [10, 22]. Este microrganismo patogénico corresponde a uma bactéria produtora de uma toxina letal ao ser humano, formadora de esporos, de estruturas resistentes ao calor que podem germinar na ausência de oxigénio [22-24]. Apesar de as embalagens utilizadas pela Centralrest, Lda possuírem oxigénio, letal para o *C. botulinum*, este microrganismo pode ainda se multiplicar no interior das refeições, e por isso o risco permanece [22-24]. Micro zonas, no interior das refeições, podem estar sob condições de anaerobiose e portanto reunir as condições necessárias ao desenvolvimento das formas esporuladas [24]. Entidades como a FDA (Food and Drug Administration) e a ACMSF (Advisory Committee on Microbiological Safety of Food) recomendam 6D para este microrganismo [10, 22].

### 3.1.4 Conservação a baixas temperaturas - Congelação e Refrigeração

Na pré-história, em zonas de clima frio onde o gelo e temperaturas baixas faziam

parte da vida quotidiana das pessoas, o arrefecimento era o método de conservação de eleição, pela conveniência associada. No entanto, foi apenas em 1878, em Chicago (EUA), que surgiram as primeiras instalações refrigeradas. Uns anos mais tarde, em 1890 conseguiu-se realizar o primeiro transporte de barco de carne refrigerada entre a Argentina e a França. A refrigeração doméstica surgiu 20 anos depois, atingindo a banalização nos EUA e posterior globalização. Ao longo da evolução da história da humanidade, a evolução das metodologias de conservação resultaram na melhoria e no aperfeiçoamento dos métodos de preservação. [19]

Globalmente a conservação de alimentos a temperaturas reduzidas é realizada de duas formas, por refrigeração ou congelação. Estas duas técnicas baseiam-se na aplicação de temperaturas baixas, através da remoção de calor, permitindo assim preservar os alimentos durante um determinado período. [16]

A conservação a baixas temperaturas é possível devido à relação existente entre a temperatura e os processos físicos, químicos e biológicos. Esta ligação permite, com a descida de temperatura, diminuir a velocidade dos processos decorrentes na matriz alimentar [9]. As perdas no conteúdo físico-químico do alimento resultante deste processo, face a outras metodologias, são menores. Maioritariamente as alterações bioquímicas e químicas, resultantes da conservação a frio, decorrem a temperaturas na ordem dos -30 a 30 °C. Um decréscimo na temperatura de 10 °C resulta na diminuição da velocidade da reação para cerca de metade ou 1/3 da velocidade inicial. Isto permite aumentar de forma proporcional o prazo de validade dos produtos alimentares armazenados. [9]

O crescimento e a multiplicação da microflora associada aos produtos alimentares compreendem complexas reações bioquímicas. De uma forma generalizada, o crescimento microbiano diminui com a temperatura. Assim, com o decréscimo da temperatura, é possível estender a fase de latência do crescimento dos microrganismos e ainda afetar e/ou diminuir a velocidade de crescimento na fase exponencial. [9]

A congelação é das formas de preservação mais empregues nos dias de hoje pelo consumidor, permitindo conservar alimentos por longos períodos de tempo. Esta técnica, ao contrário da refrigeração, permite controlar o metabolismo dos microrganismos, uma vez que regula ou mesmo termina a maioria das atividades microbiológicas e fisiológicas, exceto algumas alterações químicas e enzimáticas [18]. As contaminações dos produtos congelados são episódios maioritariamente associados à fase preliminar à congelação, e à fase de descongelação [25]. Utilizando temperaturas inferiores a -18 °C, é possível introduzir no mercado produtos com um maior prazo de validade, comparativamente aos produtos refrigerados, pois o gelo resultante do processo cria menor instabilidade no sistema alimentar [18].

Por outro lado, do processo de refrigeração resultam produtos mais frescos, com menor grau de processamento, no entanto, a esta gama de produtos está inevitavelmente associada um menor prazo de validade, uma vez que o metabolismo microbiano não cessa [18].

Como principais diferenças entre a refrigeração e congelação destacam-se: (1) Gama de temperatura de conservação; (2) Influência do processamento na estrutura na matriz dos alimentos; (3) Grau de atividade biológica; (4) Disponibilidade de água livre; e (5) Prazo de validade (Tabela 4). [26]

Tabela 4 Principais diferenças entre congelamento e refrigeração, adaptado [26].

Método de conservação	Congelamento	Refrigeração
Gama de temperatura	-10 a -18 °C	0 a 15 °C
Influência do processamento na estrutura dos tecidos	Extensa (física)	Moderada (fisiológica)
Grau de atividade biológica	Nula ou baixa	Moderada
Grau de atividade química	Baixa	Moderada
Grau de atividade enzimática	Baixa	Moderada
Disponibilidade de água livre	Praticamente nula	Elevada
Prazo de validade	Meses a anos	Dias a meses

Os contaminantes associados aos alimentos refrigerados compreendem organismos psicrotróficos com rápido crescimento até 0 °C. O metabolismo destes microrganismos tende a abrandar entre os 0 °C e os -10 °C [26], sendo que a -5 °C, paralelamente ao seu desenvolvimento, verifica-se a proliferação de alguns bolores e leveduras [7]. O crescimento microbiano apenas cessa abaixo dos -10 °C, sendo natural observar-se alguns casos de morte celular, mas não na totalidade [26]. Maioritariamente, as preocupações ao nível da saúde pública centram-se nos microrganismos patogénicos que crescem acima dos 4 °C. Estes organismos apresentam crescimento lento entre os 3 °C e os 10 °C e rápido entre os 10 °C e os 40 °C [26].

A congelamento compreende normalmente temperaturas abaixo dos -10 °C, sendo a temperatura de armazenamento comercial mais comum -18 °C. O método de congelamento mais adotado na indústria alimentar é a congelamento por ar numa câmara ou túnel de congelamento [26]. O processo de congelamento envolve a transição de fase da água no estado líquido para o estado sólido. A passagem da água líquida pura para o estado sólido (gelo) aos 0 °C é a fase do processo de congelamento que leva mais tempo, sendo necessária a remoção de uma maior quantidade de calor. No entanto, devido à complexidade das matrizes alimentares, este processo pode ser mais lento em alguns alimentos, e variável de acordo com o alimento a congelar, utilizando-se maioritariamente temperaturas entre -1 °C e -2 °C. [26]

A congelamento pode ser realizada de forma lenta ou rápida. Do processo de congelamento lento resulta a formação de cristais extracelulares de grandes dimensões, cujo efeito é sentido pelas células. Estes cristais, formados nas zonas extracelulares, comprimem as células e no processo de descongelamento provocam alterações na textura que se reflete na qualidade do produto final. Neste sentido, um processo de congelamento lento não é favorável, sendo mais adequado um processo rápido. No caso de um processo particularmente rápido, ocorre também a formação de cristais, mas de menores dimensões, não só no meio exterior à célula, mas também no seu interior, não se observando uma alteração tão significativa da textura do alimento. [26]

Para a indústria, interessa um processo de congelamento rápido, não só por motivos da qualidade, mas também por motivos produtivos, pois apesar do maior gasto energético associado é mais rentável. Do ponto de vista logístico, é mais prático e conveniente um processo rápido, por forma a conseguir elevados rendimentos [27]. No entanto, as vantagens associadas à congelamento rápida são anuladas pelas reações químicas deteriorativas e pela incorreta conservação por parte dos hipermercados ou mesmo pelos consumidores, que muitas vezes permitem a ocorrência de flutuações de temperatura. Estas variações de temperatura levam à formação de cristais grandes, que tal como já referido, apresentam desvantagens para a qualidade alimentar do produto.

Neste sentido, podemos inferir que não apenas a congelação rápida é fulcral, mas um transporte e armazenamento adequado também é igualmente importante [26, 27].

No geral, os alimentos não apresentam a mesma sensibilidade à taxa de congelação. Os produtos alimentares são divididos em 4 grupos (Tabela 5), de acordo com a sua sensibilidade que apresentam à congelação [27].

Tabela 5 Agrupamento de vários tipos de alimentos de acordo com a sua sensibilidade à taxa de congelação, adaptado [27].

Grupo	Produto	Influência da Taxa de congelação na qualidade do produto final
1	Produtos secos (como ervilhas)	Não influencia
	Carne (elevada % lípidos)	
	Refeições prontas (c/ vários tipos de carne)	
2	Peixe	Influencia (Taxa de congelação deve ser > 0.5-1.0 °C/min)
	Carne (magra)	
	Refeições prontas (c/ açúcares)	
3	Morangos	Influencia (Taxa de congelação deve ser > 3.0-6.0 °C/min)
	Cenouras	
	Feijão	
4	Materiais com textura gelatinosa (ovos, molhos)	Influencia (Vantajosa elevada taxa de congelação)
	Legumes	
	Frutas (produtos c/ elevada quantidade de água)	

Paralelamente, há que considerar que a qualidade dos alimentos congelados não é apenas influenciada pela velocidade do processo de congelação, mas depende também da temperatura de armazenamento e do tipo de produto em questão [26]. As estratégias utilizadas para colmatar as falhas na qualidade dos alimentos, resultantes da preservação, são a adição de ervas aromáticas e condimentos. Deste modo, conseguem-se compensar as perdas de sabor durante a refrigeração por longos períodos de tempo e ainda disfarçar sabores desagradáveis que eventualmente se desenvolvam [27].

### 3.1.5 Microrganismos nos Alimentos

Os alimentos possuem uma microflora natural diversificada em quantidade variável. O teor microbiológico inicialmente presente nas matérias-primas pode variar de acordo com a qualidade da matéria-prima fornecida. Assim, de forma a assegurar que o teor microbiano no produto final seja reduzido a níveis aceitáveis é fundamental a utilização de matérias-primas de boa qualidade, a adoção de boas práticas de higiene e fabrico, um processamento térmico eficaz e uma conservação adequada.

Os processos envolvidos nos alimentos estão ligados à temperatura. Este é o princípio sob o qual se baseia a conservação de alimentos a temperaturas reduzidas: a velocidade dos processos físicos, químicos, biológicos e microbiológicos diminui com a descida da temperatura. Esta diminuição da temperatura traduz-se na extensão da fase latência do crescimento dos microrganismos, incitando uma diminuição na velocidade de crescimento na fase exponencial (Figura 6). [9]

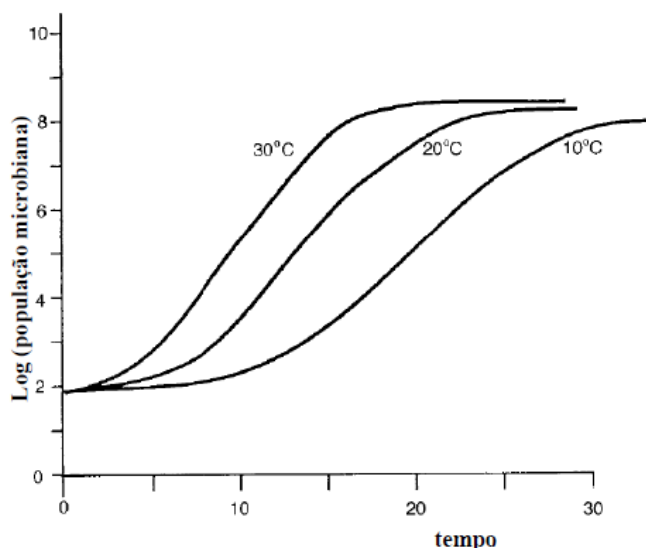


Figura 6 Influência da temperatura na duração da fase lag [9].

Existem algumas preocupações em torno da segurança microbiológica e da preservação por refrigeração das refeições prontas. Estas são genericamente produtos com as seguintes características: não possuem ou possuem uma pequena quantidade de conservantes pouco ácidos, com elevada humidade e elevada  $a_w$ ; passam por processamento térmico mínimo (e portanto devem ser refrigerados); são embalados a vácuo (o que por sua vez proporciona um ambiente favorável para o desenvolvimento de microrganismos patogénicos anaeróbicos, como a *C. botulinum*); e ainda, são frequentemente sujeitos a variações de temperatura. [28]

As doenças transmitidas através do consumo de alimentos produzidos pelas técnicas *cook-chill* e *sous vide* estão maioritariamente associadas à contaminação com microrganismos patogénicos formadores de esporos, como *C. botulinum*, *C. perfringens* e *Bacillus cereus*. Estes microrganismos correspondem a organismos formadores de esporos capazes de resistir ao tratamento térmico empregue, e capazes de germinar, crescer e se multiplicar durante o arrefecimento, armazenamento e distribuição [28]. Mesmo que se verifique uma boa refrigeração e nenhuma quebra na cadeia de frio, existem microrganismos que podem desenvolver-se a temperaturas baixas, inferiores a 5 °C [9]. Em produtos processados, os microrganismos de maior preocupação correspondem a patogénicos psicrotróficos não formadores de esporos, aeróbios facultativos, como a *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Aeromonas hydrophila* [28]. Por isso, representam também um risco para a saúde do consumidor de refeições prontas *sous vide* [28].

Por outro lado, quando as refeições são sujeitas a temperaturas de conservação abusivas, bactérias mesófilas, anaeróbicas facultativas como a *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*, ou estirpes patogénicas de *Escherichia coli* podem constituir um perigo para a saúde pública. Apesar de todas as formas patogénicas vegetativas serem, por definição, eliminadas pela pasteurização térmica, no caso da utilização de matérias-primas de má qualidade microbiológica, a pasteurização é insuficiente para eliminar ou reduzir a carga microbiana para níveis microbiológicos aceitáveis. Estes microrganismos patogénicos estão frequentemente associados a casos de contaminação pós-processamento, antes do embalamento ou devido à incorreta selagem das cuvetes. Paralelamente, estes patogénicos podem apresentar termorresistência através da

síntese de proteínas resistentes ao calor [28].

## 3.2 Qualidade e Segurança Alimentar

Qualquer pessoa entende intuitivamente o que significa qualidade alimentar, “grau de excelência”, e Segurança Alimentar “alimento cujo consumo seja seguro, sem agentes provocadores de doença ou ferimento”. Estes conceitos derivam da necessidade de proteger o consumidor de potenciais perigos e de produtos de qualidade inferior. [29, 30]

A nível mundial, são várias as entidades responsáveis pela definição, teste, aceitação e controlo legislativo dos alimentos. As organizações cujo papel é mais relevante são: a Organização Internacional de Alimentação e Agricultura (*Food & Agriculture Organization* ou FAO), a Organização Mundial de Saúde (*World Health Organisation* ou WHO), Comissão do *Codex Alimentarius* (*Codex Alimentarius Commission* ou CAC) e a Organização Internacional de Normalização (*International Standards Organization* ou ISO). No âmbito europeu, destaca-se a criação da Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (*European Food Safety Authority* ou EFSA) e do livro branco sobre Segurança Alimentar no ano 2000. Fundamentalmente, o objetivo da publicação do livro branco foi a formulação de um documento oficial com um conjunto de ações necessárias para completar e modernizar a legislação da União Europeia na área alimentar, garantindo um nível elevado de segurança alimentar. Este livro foi desenvolvido para melhorar a aplicação da legislação e proporcionar aos consumidores uma maior transparência.

Atualmente, ao nível nacional, as entidades reguladoras são três: a “Comissão Técnica Portuguesa de Normalização”, o “Instituto Português da Qualidade Alimentar” e a “Autoridade de Segurança Alimentar e Económica” (ASAE). Estas organizações são responsáveis pela definição de normas portuguesas (NORMAS NP), onde consta a definição do alimento, composição, características (organoléticas, físico-químicas e microbiológicas), regras de acondicionamento e armazenamento (condições e prazos), métodos de análise, etc.

É possível assegurar a qualidade alimentar, através da adoção de um Sistema de Qualidade adequado, com uma estrutura organizativa, responsabilidades, processos e procedimentos. Existem vários sistemas de gestão alimentar, dos quais se destacam o *Codex Alimentarius*, o sistema HACCP e os Códigos de boas práticas, de produção (GMP) e de Higiene (GHP).

### 3.2.1 O *Codex Alimentarius* no setor Alimentar

A venda de produtos alimentares é um conceito que existe há milhares de anos, mas que, no decorrer dos anos, tem sofrido uma evolução considerável, não estando apenas confinados aos produtos disponíveis localmente.

A crescente evolução tecnológica e o fenómeno da globalização levaram à mudança das mentalidades e das necessidades. A mudança de paradigma teve implicações no setor alimentar, principalmente na implementação e desenho dos processos, sendo estes cada vez mais sofisticados e adaptáveis, já a pensar na sua implementação à escala global.

No decorrer do último século, a quantidade de alimentos comercializados



internacionalmente tem crescido exponencialmente, sendo hoje possível a globalização do consumo de produtos alimentares por todo o mundo, em quantidade e variedade nunca antes possível. Paralelamente à explosão do comércio internacional de alimentos, também o intercâmbio internacional tem crescido, com benefícios económicos e sociais positivos. No entanto, este incremento implicou um aumento de preocupações, uma vez que o aumento do número de viagens facilita a propagação de doenças à escala mundial. [31]

Assim, para prevenir e responder aos problemas e às implicações que o intercâmbio internacional de produtos alimentares gera, foi criado pela FAO e pela WHO, em 1962, o *Codex Alimentarius*, expressão em latim que significa "código alimentar", ou "livro sobre alimentos". Este surge com o objetivo de proteger a saúde do consumidor, promover o intercâmbio internacional de produtos alimentares e prevenir fraudes. Este documento é uma coletânea onde constam todas as normas, as diretrizes e códigos de boas práticas que asseguram a segurança, qualidade, e equidade do comércio internacional de alimentos e seus derivados. Presentemente, este documento é reconhecido internacionalmente. Apesar de cada país possuir as suas próprias normas, os princípios gerais são os mesmos, estando o *codex* sempre em conformidade com a legislação a ser empregue. [30, 31]

Está determinado que os alimentos não podem ser exportados caso: (1) sejam portadores de algum tipo de substância em decomposição ou imprópria para consumo humano, ou em dose suficiente para que se torne prejudicial para a saúde humana; (2) sejam adulterados; (3) rotulados de forma incorreta ou de forma enganosa; (4) durante a produção, distribuição e venda se verificarem condições de higiene reduzidas. Este documento considera todas as fases da cadeia alimentar, desde a produção primária até ao consumo final, e recomenda também a implementação de um sistema de controlo alimentar, designado por HACCP (*Hazard Analysis and Critical Control Point*) [31]. Todos os organismos, que interferem na produção de um produto alimentar, devem garantir que os alimentos resultantes são seguros e próprios para consumo humano [30, 31].

Além disso, é igualmente importante controlar os equipamentos utilizados e os alimentos, isto é, devem ser realizados com alguma frequência o controlo das condições de higiene, a monitorização dos binómios ( $t$ ,  $T$ ) durante a confeção, empratamento, processamento, como também na fase de abatimento da temperatura (arrefecimento) e armazenamento. É fundamental garantir que as gamas de temperaturas pretendidas para cada caso sejam atingidas e mantidas de forma rápida. Considerando a matriz heterogénea, própria da maioria dos alimentos, e tendo em conta as características dos alimentos ( $pH$  e  $a_w$ ) que os tornam mais ou menos perecíveis ao desenvolvimento de determinados tipos de microrganismos, são também parâmetros importantes a supervisionar [31]. Neste sentido, devem ser realizadas análises microbiológicas com alguma frequência, para assegurar o cumprimento dos padrões de higiene e de temperatura pretendidos, e garantir que os microrganismos patogénicos indesejáveis são devidamente eliminados ou reduzidos para níveis seguros. Esta monitorização microbiológica e higiénica levou à formulação de sistemas de controlo de qualidade, onde toda a informação e todos os dados são devidamente registados, permitindo detetar problemas e minimizar os riscos ainda numa fase mais precoce, antes do alimento ser ingerido pelo consumidor. [27]

No caso da produção à escala industrial, torna-se difícil supervisionar todas as etapas de produção de forma rápida e eficaz. É fundamental garantir que a linha de produção

cumprir todos os limites e padrões estabelecidos pela legislação, garantindo a confecção, processamento, arrefecimento de temperatura e armazenamento adequado. No caso das refeições prontas, existe uma preocupação adicional, pois estas são consideradas produtos de risco. Por isso, é imprescindível uma monitorização e um acompanhamento permanente durante todas as etapas do processo produtivo, de forma a minimizar os riscos associados e a rejeição do produto final. [8]

#### 3.2.2 HACCP

HACCP ou "*Hazard Analysis and Critical Control Point*", deriva do inglês e é frequentemente utilizada para referir a análise de perigos e dos pontos críticos de controlo de um processo [10]. A implementação do sistema HACCP remete-nos à década de 60. Na época, surgiu a necessidade de produzir alimentos seguros para o programa espacial dos Estados Unidos, orientado pela NASA, e garantir que os produtos alimentares desenvolvidos para os astronautas fossem livres de patogénicos [32].

Atualmente a implementação do sistema HACCP baseia-se numa estratégia sistemática para identificar os pontos críticos de controlo (PCC), avaliar e controlar as etapas de um processo de fabrico, transporte e armazenamento. Um PCC corresponde a um momento ou passo no processo onde será necessário eliminar, prevenir ou reduzir o perigo para níveis de risco aceitáveis. Paralelamente à identificação dos PCC, este sistema permite definir uma estratégia que aposta essencialmente na prevenção do aparecimento de problemas. O sistema HACCP baseia-se fundamentalmente num princípio de prevenção e não na correção, por forma a detetar e controlar os problemas antes de acontecerem. Assim, é possível identificar produtos ou processos que possam mais provavelmente causar intoxicação ou infeção alimentar, abranger todo o estabelecimento físico onde ocorre a produção e durante um período de tempo determinado, basear-se no controlo do tempo, temperatura e fatores específicos que podem contribuir para ocorrência de intoxicação ou infeção alimentar e produzir diagramas de fluxo do processo, identificando pontos de alto risco e controlando-os. [31, 33]

O HACCP pode ser aplicável a todos os processos do setor agrícola e alimentar: plantação, colheita, processamento, fabrico, distribuição, venda e preparação para consumo, sendo que, segundo a legislação, ainda não é obrigatória a sua implementação na fase da plantação e colheita. A implementação deste sistema simplifica as tarefas do operador a vários níveis, facilita a inspeção por parte das autoridades reguladoras competentes e promove o comércio ao nível internacional, pois da sua implementação resulta um aumento no nível de confiança no que toca à segurança dos alimentos. [8, 31, 33]

A implementação do sistema HACCP baseia-se em 7 princípios essenciais (Figura 7) [31, 33].

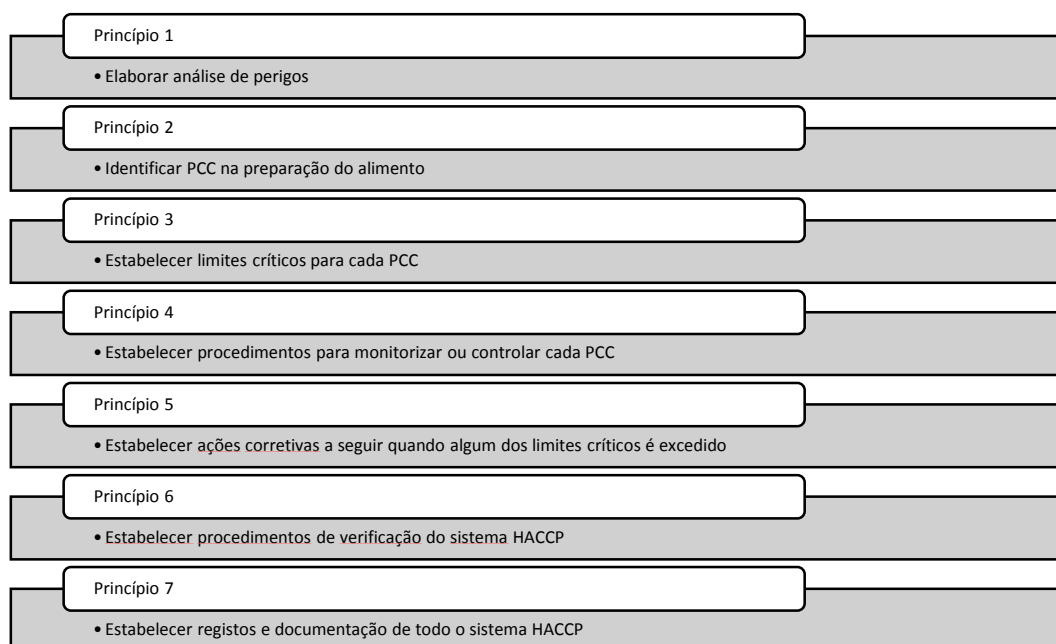


Figura 7 Princípios que regem o sistema HACCP, adaptado [31, 33].

### 3.2.3 Código de boas práticas

No início dos anos 60, surge o conceito de “*Good Practice*” (GP) ou “código de boas práticas”. As boas práticas referem-se a um conjunto de recomendações que permitem as condições e padrões mínimos aceitáveis no processamento e armazenamento de produtos. Estas especificações não têm base legal mas são frequentemente designadas como ponto de partida para implementar outros sistemas, como é o caso do sistema HACCP. [33]

Genericamente existem dois tipos de códigos de boas práticas: (1) boas práticas de produção e (2) boas práticas de Higiene.

O código de boas práticas de produção é designado pela sigla GMP, cujo significado deriva do inglês “*Good Manufacturing Practice*”. Esta abreviatura é utilizada para referir os “procedimentos desenvolvidos numa unidade de processamento de alimentos que resulta consistentemente em produtos de qualidade microbiológica aceitável, monitorizados por testes laboratoriais e por testes *online*. Um código GMP deve definir quais os detalhes do processamento necessários para atingir este objetivo, como tempo, temperatura, detalhes de equipamento, *layout*, desinfeção, práticas de higiene e testes laboratoriais. [33]

Várias organizações têm produzido vários códigos GMP, das quais a CAC e a FDA. Uma vez que os GMP são formulados para responder a diversas situações, podem carecer de informação e ser demasiado vagos, pois não são formulados para situações particulares. [33]

## 3.3 Lagosta Selvagem

A lagosta está entre as espécies marinhas mais valorizadas em todo o mundo. Estes organismos marinhos, conhecidos pelo nome genérico “Lagosta”, são crustáceos decápodes da subordem *Palinura* (Tabela 6). [34]

Tabela 6 Classificação científica da Lagosta, adaptado [34].

Lagosta	
<b>Reino</b>	Animalia
<b>Filo</b>	Arthropoda
<b>Subfilo</b>	Crustacea
<b>Classe</b>	Malacostraca
<b>Ordem</b>	Decapoda
<b>Subordem</b>	Palinura

São dos crustáceos mais encorpados e com maior longevidade, caracterizados pela posse de antenas com diferentes tamanhos, ecologicamente importantes numa variedade de ecossistemas marinhos temperados e tropicais. Em muitas partes do mundo, as lagostas possuem um valor comercial importante para as pescas, sendo atualmente consideradas um alimento de luxo. Por isso, tornaram-se um dos organismos mais explorados e estudados. [34]

A literatura destaca quatro famílias distintas de crustáceos decápodes: *Nephropidae*, *Palinuridae*, *Synaxidae*, *Scyllaridae* (Tabela 7). Entre as mais variadas diferenças, destacam-se o tamanho corporal, a presença ou ausência de antenas secundárias e o seu tamanho, posse de garras, forma da carapaça, etc. [34]

Tabela 7 Principais diferenças entre as 4 famílias de Lagosta, adaptado [34].

Família	Caraterísticas diferenciadoras
<i>Nephropidae</i> (38 espécies)	Garras Carapaça subcilíndrica Tribuna entre os olhos
<i>Palinuridae</i> (49 espécies)	Sem garras Carapaça subcilíndrica, com muitos espinhos Segunda antena longa
<i>Synaxidae</i> (2 espécies)	Sem garras Carapaça subcilíndrica Segunda antena com comprimento moderado Tribuna entre os olhos
<i>Scyllaridae</i> (74 espécies)	Sem garras Carapaça achatada Sem tribuna Segunda antena ampla

A anatomia geral deste organismo marinho está dividida em duas zonas principais: abdómen e cefalotórax (Figura 8) [34].

O cefalotórax corresponde à cabeça da lagosta, zona caracterizada pela fusão de um conjunto de cinco segmentos cefálicos e oito segmentos torácicos. Todos os segmentos existentes possuem apêndices emparelhados, que podem ser identificados. Os apêndices da cabeça são compostos primeiramente pelas antenas primárias, seguidas das mandíbulas, antenas secundárias e por fim maxilares primários, e secundários. Os oito segmentos torácicos suportam três maxilípedes e cinco pares de pereiópodes, pernas que permitem a locomoção do organismo. Esta zona está protegida por uma carapaça rígida de quitina, revestida muitas vezes por sais de cálcio acumulados. [34]

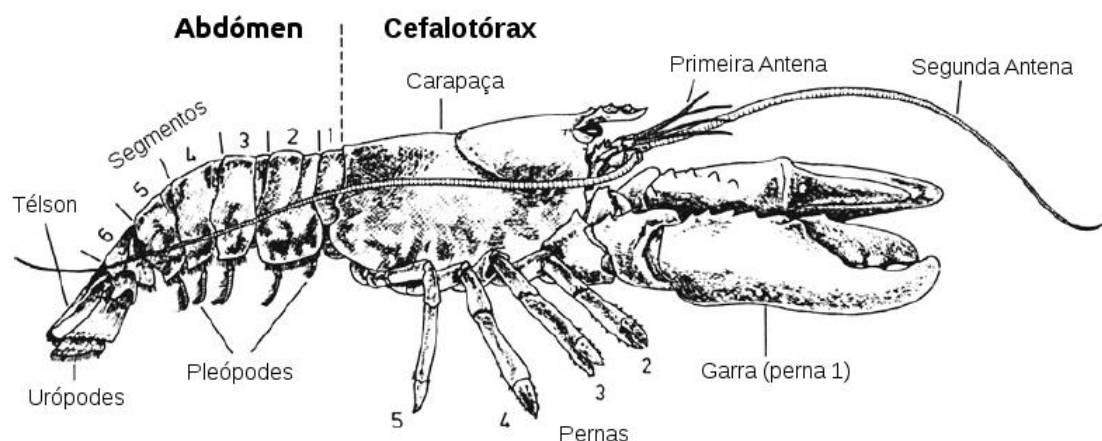


Figura 8 Principais características da anatomia externa de uma lagosta (vista lateral), adaptado [34].

O abdómen é uma zona musculada interligada à cauda, que permite à lagosta nadar em caso de fuga, composto pelos últimos seis segmentos. Os primeiros cinco segmentos abdominais emparelhados suportam os pleópodes. Outra parte central da cauda é o telson. Esta zona, está coberta pelos urópodes, apêndices achatados [34].

### 3.3.1 Espécie *Palinurus*

As lagostas pertencentes à espécie *Palinurus*, há séculos que são pescadas no mar Mediterrâneo e no nordeste do Oceano Atlântico, entre a Noruega e as Ilhas de Cabo Verde, assim como, nos últimos 50 anos, no sudoeste do Oceano Índico, ao largo da África do Sul e Moçambique [35, 36].

Cerca de 40 artigos científicos sobre lagostas *Palinurus* foram publicados entre 2005 e 2011. Maioritariamente, a investigação científica focou-se em três temas principais: análises moleculares para avaliar o fluxo dos genes e a estrutura genética populacional, áreas marinhas protegidas (AMPs) para aumentar as populações de lagosta mais procuradas, e a influência dos processos oceânicos na dispersão larval, a sua liquidação no fundo do mar e ecologia juvenil [35, 36].

Presentemente são conhecidas 5 espécies *Palinurus*: *P. Elephas*, *P. charlestoni*, *P. mauritanicus*, *P. gilchristi* e *P. delagoae*. Os dois últimos géneros são espécies pescadas no oceano Índico, ao longo da plataforma continental marítima da África do Sul (35°S), Moçambique (17°S) e Madagáscar (Figura 9). [36]

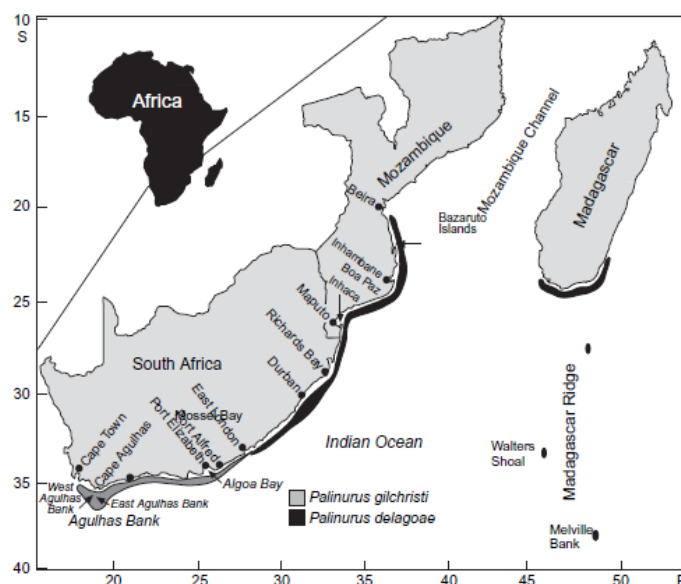


Figura 9 Distribuição das espécies de Lagosta, *Palinurus gilchristi* e *Palinurus delagoae*, ao longo das plataformas continentais marítimas da África do Sul, Moçambique e Madagáscar, no oceano Índico [36].

A lagosta *P. delagoae* (Figura 10) é um género típico da espécie *Palinurus* encontrado em águas profundas (entre os 100 e os 600 m), originária de Moçambique. Este é o crustáceo utilizado na confeção de pratos de lagosta na Centralrest, Lda.

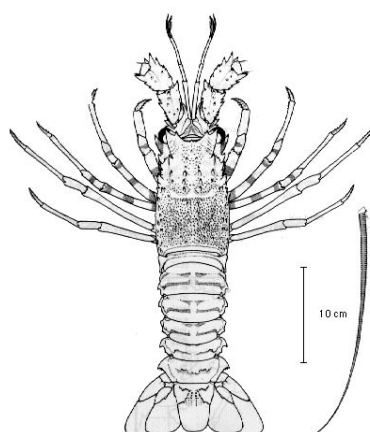


Figura 10 Vista dorsal do género *P. delagoae* [37].

### 3.3.2 Composição nutricional

A ingestão de organismos marinhos é uma forma saudável e saborosa de apreciar uma refeição. Da sua preparação resultam pratos deliciosos, com elevado valor nutricional [38]. A constituição nutricional genérica engloba uma série de componentes essenciais como água, proteínas, lípidos, hidratos de carbono, vitaminas e sais minerais (Tabela 8) [38, 39].

As lagostas oferecem também uma infinidade de benefícios à saúde. O alto teor em proteínas faz com que este alimento seja benéfico especialmente para atletas. O baixo teor em gordura torna a lagosta numa das melhores opções para consumidores conscientes, que se preocupam com saúde. É um excelente alimento para controlar os níveis de triglicédeos, devido à baixa quantidade de colesterol. Tal como outros

produtos do mar, é uma boa fonte de ácidos gordos, essenciais ao coração e ao cérebro (ômega 3), reduzindo assim o risco associado a doenças cardiovasculares. Este crustáceo, além de conter uma pequena quantidade de gordura saturada, fornece também uma infinidade de minerais e vitaminas essenciais, envolvidos nos mais variados processos do metabolismo humano, como zinco (necessário para estimular o sistema imunitário e prevenir a perda de visão), fósforo (envolvido na formação de dentes e ossos), vitamina B12 (envolvida na manutenção das células do sangue e células nervosas) [38, 39]. É frequente verificar pequenas diferenças na composição nutricional entre os vários estágios de desenvolvimento da lagosta ou mesmo entre as diferentes espécies, relacionadas com os diferentes padrões de reprodução em regiões com diferentes condições climáticas [40, 41].

Tabela 8 Composição nutricional geral da lagosta, adaptado [38, 39].

<b>Componentes principais (unidade)</b>	<b>Quantidade em 150 g</b>
Água (g)	115
Proteínas (g)	28.2
Hidratos de Carbono (g)	0.7
Açúcares (g)	0.0
Colesterol (mg)	142
<b>Calorias (unidade)</b>	<b>Quantidade em 150 g</b>
Calorias totais (cal)	135
Calorias dos Hidratos de Carbono (cal)	2.4
Calorias das Gorduras (cal)	12.2
Calorias das Proteínas (cal)	120
<b>Gorduras &amp; ácidos Gordos</b>	<b>Quantidade em 150 g</b>
Gorduras Totais (g)	1.3
Gordura saturada (g)	0.3
Gordura Monosaturada (g)	0.4
Gordura Polissaturada (g)	0.2
<b>Vitaminas (unidade)</b>	<b>Quantidade em 150 g</b>
Vitamina A (IU)	105
Vitamina E (mg)	2.2
Vitamina K (µg)	0.2
Vitamina B3/Niacina (mg)	2.2
Vitamina B5/ácido patogénico (mg)	2.4
Vitamina B6	0.1
Vitamina B12 (µg)	1.4
Riboflavina (mg)	0.1
Vitamina B9/Ácido Fólico (µg)	13.5
Colina (mg)	121

Minerais (unidade)	Quantidade em 150 g
Cálcio (mg)	72
Ferro (mg)	0.4
Magnésio (mg)	40.5
Sódio (mg)	216
Potássio (mg)	413
Fósforo (mg)	444
Zinco (mg)	4.5
Cobre (mg)	2.5
Manganês (mg)	0.1
Selênio (µg)	62.1

### 3.3.3 Alterações bioquímicas

A lagosta é um organismo marinho altamente perecível. Após a sua captura, este crustáceo é muito suscetível à perda de qualidade, provocada por modificações *pos-mortem* como a deterioração, autólise, escurecimento enzimático e oxidação lipídica. Estas alterações resultam da atividade metabólica de microrganismos, da atividade das enzimas presentes nos seus tecidos e da oxidação dos lípidos presentes. [42-44]

#### 3.3.3.1 Escurecimento Enzimático

Tem sido demonstrado que a lagosta é suscetível ao escurecimento enzimático, designado por melanose, do qual resulta a mudança de cor dos tecidos [45-48]. O escurecimento ocorre maioritariamente na cabeça do animal e nos tecidos circundantes (zonas com elevada hemolinfa) onde se encontra o coração e a maioria das artérias (Figura 11) [46, 47].



Figura 11 Melanose em lagosta recém-cortada processada (A) aspeto inicial t=0 (B) aspeto após 3 horas [46, 47].

Esta alteração ocorre frequentemente nos crustáceos, no período post-mortem, sendo induzida por um processo bioquímico, no qual os fenóis (mono- e difenóis) são oxidados a quinonas (Figura 12) pela PPO. As quinonas são estruturas altamente reativas que polimerizam espontaneamente a compostos de elevado peso molecular, como a melanina. [42, 45, 46, 48, 49]

Há que ter em conta vários aspetos. O primeiro é que a quantidade de PPO presente difere com o tipo de pesca, varia de acordo com a origem, género, sexo do crustáceo



[45]. Além disso, o pH pode ou não favorecer o processo de escurecimento, uma vez que a pH neutro e/ou ligeiramente alcalino a PPO torna-se resistente à inativação [49]. Esta enzima permanece ativa durante a manipulação a bordo, sob refrigeração e durante a descongelação. Contudo, a congelação permite inibir a sua atividade [42].

Por norma, o processamento empregue pela indústria é a cozedura. De facto, este tratamento permite garantir a segurança alimentar, destruindo as bactérias potencialmente patogénicas tais como a *Listeria monocytogenes*. No entanto, esta estratégia não é suficiente para prevenir a melanose. [46] Tipicamente, as enzimas expostas a temperaturas superiores a 60 °C são desnaturadas, parcialmente ou na totalidade, exceto neste caso. Quando a temperatura aumenta para 65 °C, ocorre um aumento na atividade da PPO, verificando-se aumentos semelhantes entre os 60 °C e 80 °C. Apenas se verificam níveis significativos de inativação a temperaturas superiores a 80 °C, sendo aconselhado pela literatura, operar acima dos 90 °C durante 36 minutos [46, 47].

Esta enzima, apesar de inofensiva para os consumidores, limita o período de validade, uma vez que provoca mudanças na aparência, nas propriedades e na qualidade da Lagosta [45]. Isto conduz a uma menor aceitação por parte do consumidor, reduzindo drasticamente o valor de mercado e levando a perdas financeiras consideráveis [47, 48].

### 3.3.3.1.1 Polifenoloxidase

A PPO (EC 1.10.3.1) é uma enzima oxido-redutase, pertencente a um grupo complexo de várias enzimas, conhecida por vários nomes de acordo com a atividade desempenhada (tirosinase, fenolase, catecol oxidase, catecolase, o-difenol oxidase, monofenol oxidase e cresolase). Esta enzima foi identificada pela primeira vez em cogumelos em 1856, por Shoenbein [47, 49, 50].

Nos crustáceos, esta encontra-se principalmente na cutícula (na superfície interna), mas também no hepatopâncreas, tecidos musculares e na hemolinfa [49]. A PPO é sintetizada como proPPO (prophenoloxidase), a partir de um gene ativado por proteases decorrentes da ação de microrganismos. Esta enzima desempenha um papel central no sistema imune dos crustáceos, atuando ao nível da resposta imunitária primária, na reparação de feridas e no processo de esclerotização da cutícula [47]. [43]

Uma vez ativa, a PPO adota atividade monofenoloxidase e o-difenoloxidase [49], catalisando a hidroxilação dos o-monohidroxifenóis para o-dihidroxifenóis e sua oxidação posterior a quinonas.

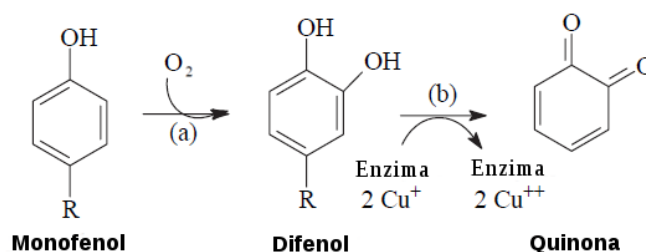


Figura 12 Reações catalisadas pela PPO (a) hidroxilação e (b) oxidação, adaptado [51].

As quinonas, incolores e resultantes da oxidação dos fenóis, são altamente reativas e podem sofrer uma oxidação adicional ou participar na polimerização não enzimática, resultando no acastanhamento [47]. Este fenómeno observado, chamado de melanose,

resulta da formação de pigmentos de melanina de cor escura visíveis na Lagosta processada [47, 51].

Existem várias estratégias estudadas, com o objetivo de combater esta alteração induzida pela PPO. As mais clássicas são adição de inibidores do processo, como a utilização de sulfitos, 4-hexylresorcinol ou a sua combinação. Outra das estratégias é adição de aditivos naturais (compostos fenólicos de plantas, como a catequina e ácido ferúlico) ou outros suplementos de extrato de cogumelo (*Flammulina velutipes*) [48, 52, 53].

#### 3.3.3.2 Digestão Proteolítica

A modificação de proteínas em processos orgânicos, como na digestão e nos mecanismos *pos-mortem*, está estreitamente ligada aos catalisadores biológicos: as enzimas [54]. As proteases representam 50% das enzimas industriais, o que as torna no mais importante grupo de enzimas industriais [55]. Estas enzimas, de origem marinha, são especialmente estudadas e exploradas pela comunidade científica alimentar, devido às características que apresentam, que permitem uma grande aplicabilidade [56, 57].

Além do termo genérico protease, é também comum designar uma enzima responsável pela digestão de proteínas nos alimentos por proteinases ou endopeptidases (EC 3.4.21-24) [55, 58]. Estas enzimas são encontradas e produzidas no sistema digestivo dos crustáceos em grandes concentrações, particularmente ativas sob várias condições [54, 59]. Elas são alvo de especial atenção, uma vez que a hidrólise proteica pode levar ao melhoramento ou à perda de qualidade alimentar. [56] Estima-se que a digestão proteica, provocada pelas proteases tecidulares endógenas, seja parcialmente responsável pela rápida deterioração dos crustáceos, após a sua captura. Isto resulta em uma rápida autólise das proteínas dos tecidos, tendo implicações visíveis ao nível da qualidade alimentar. [55, 56]

Os crustáceos apresentam enzimas digestivas idênticas à tripsina [54, 55, 59-61]. Têm sido identificadas na lagosta uma variedade de proteases sintetizadas pelas glândulas gástricas. Os estudos centram-se maioritariamente sob seis enzimas proteolíticas digestivas: tripsina, quimotripsina, carboxipeptidase (A e B), leucinaminopeptidase, elastase e collagenase [62-65]. A maioria participa na hidrólise de substratos naturais e sintéticos sob condições alcalinas. No entanto, existem ainda casos em que se verifica atividade proteolítica a pH ácido e ligeiramente ácido. A tripsina é apontada como a protease mais importante envolvida na hidrólise da proteína existente em Lagosta, seguida da quimotripsina. [62]

#### 3.3.3.3 Oxidação Lipídica

Os lípidos são uma das biomoléculas estruturais e funcionais relevantes nos alimentos. Estes elementos, definidos pelos ácidos gordos, seus derivados e por substâncias relacionadas a estes componentes, fornecem energia e nutrientes essenciais ao ser humano, como vitaminas solúveis em gordura e ácidos. Os lípidos possibilitam a elaboração de produtos saborosos, conferindo aroma, odor, textura e cor aos alimentos, contribuindo para a sensação de saciedade. Mesmo em pequena quantidade nos alimentos, os lípidos podem afetar a qualidade de alimentos, pois são

altamente suscetíveis à oxidação, uma das principais causas da deterioração da qualidade de vários tipos de produtos alimentares, frescos e processados [43, 66]. [67]

A oxidação lipídica é comumente designada por rancidez ou por ranço. Este termo deriva do latim “*rancidus*”, e é utilizado para descrever sabores ou aromas desagradáveis, característicos de gordura deteriorada. Esta deterioração não desejável tem implicações ao nível da qualidade do produto e é resultado da oxidação lipídica, que pode suceder através da autooxidação ou através da ação enzimática, nomeadamente, por ação de lipoxigenases. [68-71] Enzimas como lipoxigenases, peroxidase, e enzimas microsossomais podem a partir de tecidos animais iniciar a produção de peróxidos lipídicos tóxicos, cuja decomposição em aldeídos, cetonas, álcoois leva ao desenvolvimento de sabores desagradáveis (*off-flavors*) e causa danos nas membranas celulares, enzimas, vitaminas e proteínas. [69] Portanto, para além de alterar as características organoléticas dos alimentos como o odor e o sabor, a oxidação lipídica altera a composição nutricional dos alimentos [66, 68].

As alterações do processo oxidativo sucedem durante a preparação, processamento e armazenamento dos alimentos [66]. A oxidação lipídica ocorre maioritariamente durante o armazenamento, sendo maior na congelação comparativamente à refrigeração.

### 3.3.3.3.1 Autooxidação

A autooxidação é um processo complexo envolvendo uma sucessão de várias etapas. A oxidação dos lípidos insaturados é uma reação autocatalítica, espontânea, em que o oxigénio molecular reage com lípidos, conduzindo à deterioração oxidativa. [72] À medida que prossegue, a reação é promovida pelos seus próprios produtos havendo portanto um aumento progressivo da taxa de oxidação [7]. Este aumento da taxa de oxidação é também influenciado pela estrutura dos ácidos gordos: quanto maior for o número de insaturações na estrutura, maior será a taxa de oxidação [72]. Genericamente a autooxidação varia e é influenciada por uma série de fatores: 1. não ocorre na ausência de oxigénio; 2. velocidade da reação entre oxigénio e lípidos aumenta com a subida da temperatura (duplica com um aumento de 10 °C); 3. metais, como o cobre e ferro, atuam como catalisadores da oxidação (em pequenas quantidades atuam como pro-oxidantes); 4. exposição solar aumenta a taxa inicial da reação (10<sup>4</sup> vezes).

O mecanismo oxidativo da autooxidação está dividido 3 etapas: (1) Iniciação; (2) Propagação e (3) Terminação - Figura 13. [7, 66, 68]

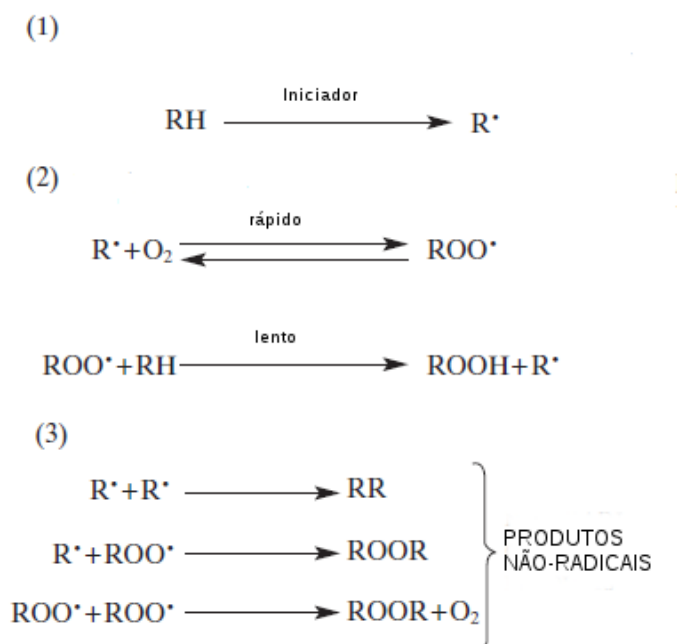


Figura 13: Ação dos radicais livres na oxidação lipídica. Etapas da autooxidação: (1) Iniciação; (2) Propagação e (3) Terminação, adaptado [66]. RH – lípido insaturado; R<sup>•</sup> – Radical lipídico; ROO<sup>•</sup> – radical peróxido lipídico; ROOH – hidroperóxido lipídico; RR, ROO – produtos estáveis.

A iniciação dá-se a partir de um oxigénio no estado excitado, formado a partir de uma reação fotoquímica, em que a absorção de um fóton o leva a ficar no estado excitado. O oxigénio no estado excitado reage com os ácidos gordos insaturados, levando à formação de hidroperóxidos (produtos de oxidação primária), que por sua vez se decompõem em radicais livres que participam numa reação em cadeia, com sucessivas oxidações. Ou seja, é necessário que a luz, na presença de um sensibilizador, atue nos lípidos para que se verifique a formação de produtos de oxidação primária não voláteis. Estes compostos, altamente instáveis, por sua vez vão decompor-se em produtos de oxidação secundária voláteis. [66]

### 3.3.3.3.2 Oxidação lipídica nos crustáceos

Após a morte, e durante o armazenamento, os tecidos marinhos são sujeitos a alterações provocadas pelo fim da respiração, pela desagregação do ATP celular, pela ação autolítica de enzimas proteolíticas no músculo, pela oxidação de lípidos e pela atividade metabólica de microrganismos. Portanto há uma relação entre o início das alterações *post-mortem*, em tecidos de origem marinha, e a oxidação lipídica. [73] Uma das principais razões, que explica as mudanças organolépticas de produtos do mar ao nível do cheiro, sabor, cor, textura e valor nutricional é devido à rápida oxidação de grandes quantidades de lípidos insaturados. Essa oxidação, enzimática ou não enzimática de ácidos gordos polinsaturados do músculo produz uma variedade de compostos carbonílicos, álcoois, etc, que são responsáveis pela alteração do sabor. [73, 74] O ranço, resultante do processo oxidativo, é normalmente avaliado através da quantificação dos seus produtos, pelo teste TBARS. Esta análise tem por base a quantificação do produto de oxidação secundária mais abundante, o malonaldeído (MDA). Robles-Martinez et al (1982) propuseram 18 µmol/kg como o teor de MDA geral

indicativo de rancidez em organismos marinhos congelados [75].



## 4. Materiais e Métodos

### 4.1 Acompanhamento dos processos de produção

O acompanhamento do processo produtivo envolveu todas as etapas de produção, desde a preparação das matérias-primas até à sua conservação (Figura 14).

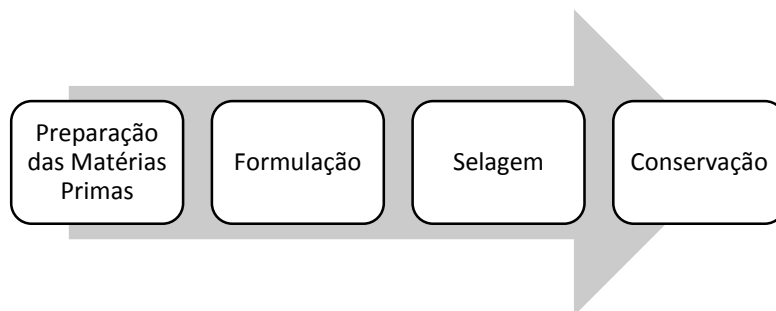


Figura 14 Principais etapas do processo produtivo da empresa Centralrest, Lda.

A fase preliminar à confeção compreende a preparação das matérias-primas e a pesagem dos ingredientes, de acordo com as instruções técnicas da ficha de formulação. Esta etapa engloba tarefas como higienização, corte, pesagem dos ingredientes e das matérias-primas numa balança digital (precisão  $\pm 0,001$  g), como também o preenchimento da ficha de formulação.

Seguidamente é dado início à confeção propriamente dita, que é realizada pelos cozinheiros. No final da confeção é sempre verificada e registada a temperatura final de confeção e realizada a análise sensorial ao produto final, de forma a inferir se o produto possui as características desejadas.

Paralelamente à formulação, foram registadas todas as etapas principais de fabrico e suas especificações, como a higienização, o tipo de corte das matérias-primas, a hidratação prévia de ingredientes, especificações da embalagem e da sua selagem para

posteriormente serem desenvolvidas, para cada uma das refeições prontas produzidas, o respetivo procedimento de operação (exemplo - Anexo E).

### 4.1.1 Registo das temperaturas de confeção

As temperaturas de confeção foram acompanhadas através da medição da temperatura no ponto de aquecimento mais lento (centro da marmita). Para efetuar o registo dos binómios (t, T), durante o período de confeção das várias refeições prontas, foram utilizados dois tipos diferentes de termómetros (Figura 15), calibrados anualmente por uma entidade certificada, o Waterproof Testo Thermometer IP67 (precisão de  $\pm 0.8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e o Testo Datalogger T172-T2 (precisão de  $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).



Figura 15 Equipamentos utilizados para o registo dos binómios (t,T): Waterproof Testo Thermometer IP67 (esquerda); Testo Datalogger T172-T2 (direita).

Este acompanhamento envolveu as refeições prontas mais frequentemente produzidas na Centralrest, Lda. Para cada tipo de produto, registou-se: o aparelho de medição, a designação do produto, o lote, a data, a hora de início da confeção e a hora a que o produto foi retirado da marmita e transferido para os carrinhos. No caso da utilização do Testo Datalogger, cujo registo dos binómios (t,T) foi realizado a cada minuto automaticamente, foi anotado o nome do ficheiro eletrónico. Quando se utilizou o Waterproof Testo Thermometer IP67, o acompanhamento dos binómios tempo-temperatura foi realizado manualmente, a cada dez minutos.

### 4.1.2 Registo do abatimento da temperatura dos produtos ultracongelados

O registo do abatimento das temperaturas dos produtos ultracongelados foi seguido a partir do início da selagem através da medição da temperatura no ponto de arrefecimento mais lento (centro do produto), recolhendo o registo dos binómios (t, T) de vários lotes de refeições prontas de 2Kg e 2,5kg, num dado período do ano.

Deu-se início à monitorização quando a primeira cuvette foi selada e terminou quando a temperatura atingiu os  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O registo foi realizado por um termómetro Testo Datalogger T172-T2 (precisão de  $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Este aparelho faz o registo automaticamente, a cada minuto. Para cada tipo de produto, registou-se: o aparelho de medição e o nome do ficheiro eletrónico associado, a designação do produto, o lote, a data, a hora de início do embalamento.



## 4.2 Pasteurização

As refeições produzidas na Centralrest, Lda, são pasteurizadas pelo pasteurizador LAINOX ou pelo pasteurizador JUMO (Figura 16), de acordo com o programa de pasteurização estabelecido.



Figura 16 Fotografias do pasteurizador LAINOX (esquerda) e do pasteurizador JUMO (direita).

### 4.2.1 Otimização das Pasteurizações

Após o acompanhamento das pasteurizações dos vários produtos, foi feita a recolha de dados (tempo, temperatura) pela direção para posterior análise. Após os cálculos das reduções decimais, concluiu-se que o número de ciclos logarítmicos atingido estava, por vezes, muito acima do pretendido. Por isso, a diretora de qualidade juntamente com a diretora da produção, consideraram que isto deveria ser alvo de uma análise.

Devido à impossibilidade de estudar todas as refeições, foram selecionadas as refeições cujo interesse seria maior em proceder à sua otimização (Tabela 9).

Tabela 9 Lista das refeições prontas em que foi feita a otimização do seu processamento.

Categoria	Designação
Produtos à base de Carne	Almôndegas 2,0Kg
	Lasanha de Carne 2,0Kg
	Moelas de Frango 2,0Kg
	Almôndegas 1,0kg
	Lasanha de Carne 1,0kg
Produtos à base de Peixe	Arroz de Pato 300g
	Bacalhau c/ Natas 5,0Kg
	Bacalhau c/ Natas 2,0kg
	Bacalhau c/ Natas 300g
	Bacalhau à Brás 300g
Produtos à base de vegetais	Caril de Gambas c/ Arroz 400g
	Creme de Cenoura 2,5kg
	Creme de Alho Francês 2,5Kg
	Lasanha Vegetariana 300g
	Creme de Cenoura 300g

Este ajuste foi feito com base na análise aos dados referentes às Pasteurizações de

2013. Para realizar o ajuste, foi calculado o integral  $F_0 = \int_0^t Ldt$  (Equação 5) para cada intervalo de tempo, até verificar as 6D desejadas e determinar o tempo mínimo de processamento necessário. Os valores de referência são para o microrganismo mais termorresistente: *Clostridium botulinum* do Tipo B (Tabela 10).

Tabela 10 Condições de referência utilizados para a análise.

Designação	Valor
Temperatura de referência	85 °C
Z	7 °C
D ref	4,85

### 4.3 Processamento de lagosta selvagem

Este trabalho foi realizado com a finalidade de estudar o problema de escurecimento observado na produção de alimentos prontos-a-comer, utilizando a lagosta selvagem.

Para o efeito, foram desenvolvidas e realizadas análises a três tipos de amostras (Tabela 11): 1. Lagosta crua; 2. Lagosta processada A; 3. Lagosta processada B. Adicionalmente, um conjunto de amostras foram descongeladas antes do processamento, a fim de seguir a atividade enzimática.

Tabela 11 Tipo de amostras e condições de processamento estudadas.

Tipos de amostras	Condições
Lagosta Crua	-
Lagosta Processada A	Programa Industrial - 15min
Lagosta Processada B	Programa alternativo - 36min

A formulação das amostras analisadas inclui primeiramente o processamento das mesmas, na empresa Centralrest, Lda, seguida da sua selagem e ultracongelação (-18 °C), de acordo com o procedimento habitualmente adotado na empresa. Para cada tipo de amostras, foram monitorizados os binómios (t, T) durante a descongelação e o processamento.

Seguidamente, uma parte das amostras preparadas foi codificada e enviada para Lisboa (Frina, Portugal), onde foi realizada a análise sensorial para avaliar a aceitabilidade das diferentes amostras produzidas. As restantes amostras foram transportadas para as instalações da universidade de Aveiro, numa arca frigorífica hermética, a fim de proceder às análises enzimáticas: atividade proteolítica e atividade da PPO. Adicionalmente, uma vez identificada após o processamento a possível alteração da matéria-prima, foi incluída uma análise à oxidação lipídica.

#### 4.3.1 Análise Enzimática

Antes da execução das análises enzimáticas, foi necessário preparar o pó de acetona das diferentes amostras, de acordo com o procedimento descrito por Fernández-Bolaños et al. (1995) com ligeiras modificações, para obtenção do extrato enzimático. [76] Primeiramente foi feita a separação do cefalotórax do abdómen para preparação do pó de acetona separadamente. As amostras foram homogeneizadas num Ultraturax separadamente, usando acetona a -20 °C, seguido por uma filtração (Bomba de vácuo, Büchi Vac® v-500). O resíduo resultante foi lavado com acetona fria até ficar incolor,

seco à temperatura ambiente e armazenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para a posterior extração das enzimas.

Para a extração enzimática a 1 g de pó de acetona adicionaram-se 20,0 mL de tampão fosfato de sódio, contendo KCl 1M, e de pH 6,2 (CAS 7447-40-7, Sigma-Aldrich). A suspensão foi agitada durante 30 min, sob refrigeração (a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), seguida de uma centrifugação (Sigma Laboratory Centrifuges 3k30) a 20000 g durante 20 min (a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Os sobrenadantes obtidos foram recolhidos e utilizados como fonte da fração solúvel e iônica das enzimas ligadas à parede das células. Por fim, todos os extratos enzimáticos foram congelados, com nitrogénio líquido ( $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), e armazenados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para utilização posterior.

#### 4.3.1.1 Determinação da atividade proteolítica

A atividade proteolítica foi determinada seguindo o procedimento descrito por Beynon et al. (1996) e Saraiva et al. (2002), com algumas alterações, pela medição da densidade ótica (DO) a 280 nm, usando como substrato uma solução de caseína (Riedel-de Haën) em tampão fosfato de sódio (0,25 M, pH 7,0) a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A 2,50 mL de solução de substrato ( $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), foi adicionada uma quantidade adequada dos extratos enzimáticos e deixou-se reagir as misturas ao longo de 5 horas, com agitação contínua.

Para parar a reação e precipitar os péptidos maiores, adicionaram-se 5,00 mL de uma solução de ácido tricloacético a 5% (TCA, CAS 76-03-9, Sigma-Aldrich) e centrifugou-se a mistura de reação. Por fim, procedeu-se à recolha do sobrenadante e mediu-se a densidade ótica a 280nm, correspondendo a pequenos péptidos e aminoácidos resultantes da ação proteolítica sobre a caseína. A atividade foi determinada através de uma regressão linear que relaciona o aumento da densidade ótica com o tempo. Para o cálculo da atividade, foi definida uma unidade de atividade como a quantidade de enzima necessária para produzir 1  $\mu\text{mol}$  de equivalentes de tirosina por minuto. [77-79]

#### 4.3.1.2 Determinação da atividade da PPO

A atividade enzimática da polifenoloxidase (PPO, EC 1.10.3.1) foi determinada, com base no procedimento descrito por Cardoso et al. (2009) com algumas modificações, por espectrofotometria de UV-Vis pela monitorização da absorvância a 411nm durante 5 minutos. [80] A atividade foi determinada usando como substrato Catecol 0,01M (CAS 120-80-9, Fluka) em tampão fosfato (0,1M, a pH 6,5) a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , através de uma regressão linear que relaciona o aumento da densidade ótica com o tempo (1 unidade de enzima foi definida pela quantidade de enzima necessária para produzir 1 $\mu\text{mol}$  de *O*-benzoquinona por minuto). Para o efeito, a 1000 $\mu\text{L}$  de substrato foram adicionados 100 $\mu\text{L}$  de extrato enzimático, incubados a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , durante 2 minutos, seguida da monitorização da absorvância a 411nm a cada 10 segundos durante 5 minutos. A atividade da PPO foi determinada a partir do declive da zona linear da curva, que relaciona absorvância com o tempo, e foi expressa como  $\Delta\text{Abs}_{411\text{nm}}/\text{min/g}$  de peso seco.

### 4.3.2 Análise da Oxidação Lipídica

O Ranço é uma medida não quantificável e por isso, para a sua análise, é comum recorrer-se à quantificação dos seus produtos, através do teste TBARS. A avaliação tem por base a quantificação do produto de oxidação secundária mais abundante, o MDA. A uma temperatura elevada e a um valor de pH ácido, 1 mole de MDA reage com 1 mole de TBA (ácido 2-tiobarbirtúrico), forma-se um cromóforo de cor vermelha quantificável a 532nm. [81-83]

Antes da análise propriamente dita, pelo teste TBARS, foi necessário a preparação das amostras a analisar. Todas as amostras a analisar foram descongeladas previamente, num frigorífico. Antes da pesagem da porção de amostra a analisar, foi feita a separação do cefalotórax do abdómen, para realizar a análise separadamente. A 2,5g de amostra colhida foram adicionados 25,0 mL de TCA 7,5% (CAS 76-03-9, Sigma-Aldrich) e a mistura homogeneizada durante 2 minutos num Ultraturax. Posteriormente, cada amostra foi centrifugada a 2000 rpm, durante 20 minutos a 4°C (Centrifuga Sigma Laboratory Centrifuges 3k30), seguido de uma filtração. O filtrado foi recolhido e utilizado no teste TBARS. [84, 85]

#### 4.3.2.1 Determinação do teor de malonaldeído

A determinação do teor de MDA foi feita através de uma reta de calibração realizada a partir de uma solução mãe de 1000 µM de 1,1,3,3-tetrametoxipropano (TMP, CAS 102-52-3, Sigma-Aldrich), cujas concentrações dos padrões variam entre 0,0 e 5,0 µM. A 1,00 mL de filtrado, adicionou-se 1,00 mL de TBA a 46mM (CAS 504-17-6, Sigma-Aldrich), deixando a reagir sob agitação rápida num banho de água a 100 °C, durante 40 minutos. Após 40 minutos, arrefeceu-se os tubos em gelo e registou-se a absorvância a 532nm num leitor de microplacas Multiskan Go – Thermo Scientific. [84, 85]

### 4.3.3 Análise Sensorial

Para avaliar o resultado dos diferentes processamentos aplicados à lagosta foram realizados testes sensoriais às diferentes amostras desenvolvidas para avaliar a aceitabilidade das mesmas.

A análise foi realizada em Cacém (Lisboa) pelo painel de provadores da Frina, painel treinado e habituado a analisar este tipo de produtos. Todas as amostras testadas foram, de acordo com as instruções de regeneração dadas pela embalagem do produto, reaquecidas no micro-ondas para posterior análise.

A folha de prova adotada foi desenvolvida na Centralrest, Lda especificamente para estes testes (Anexo L). Esta análise incluiu no total a avaliação de 5 caraterísticas, como a cor, sabor, aroma, textura, cheiro e também a sua aceitação global. Para caraterizar as amostras foi usada uma escala de 1 a 9: 1. desgostei muitíssimo; 2. desgostei muito; 3. desgostei moderadamente; 4. desgostei ligeiramente; 5. nem gostei, nem desgostei; 6. gostei ligeiramente; 7. gostei moderadamente; 8. gostei muito; 9. gostei muitíssimo. Adicionalmente, também foi incluída uma zona, na folha de prova, onde cada provador poderia registar observações adicionais, se necessário.

#### 4.3.4 Análise Estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicado, sendo para cada amostra calculado uma média e desvio padrão. Foi utilizado o teste ANOVA para fazer uma análise da variância. Para verificar se as diferenças eram significativas, entre as várias amostras de Lagosta, foi definido um nível de significância de ( $P < 0.05$ ), com um intervalo de confiança de 95%.



# 5. Resultados e Discussão

## 5.1 Acompanhamento dos processos de produção

Inicialmente, começou-se por conhecer as instalações (mapa das instalações: Figura A.1 – Anexo A), os seus colaboradores, o funcionamento e a organização da empresa. Esta fase de integração incluiu perceber as obrigações de um responsável de produção, cuja principal função foca-se no controlo de todos os processos a decorrer na produção. As tarefas desempenhadas na produção centram-se no acompanhamento de toda a produção, desde a preparação das matérias-primas até ao acondicionamento do produto final (Figura 17).

## 5 Resultados e Discussão

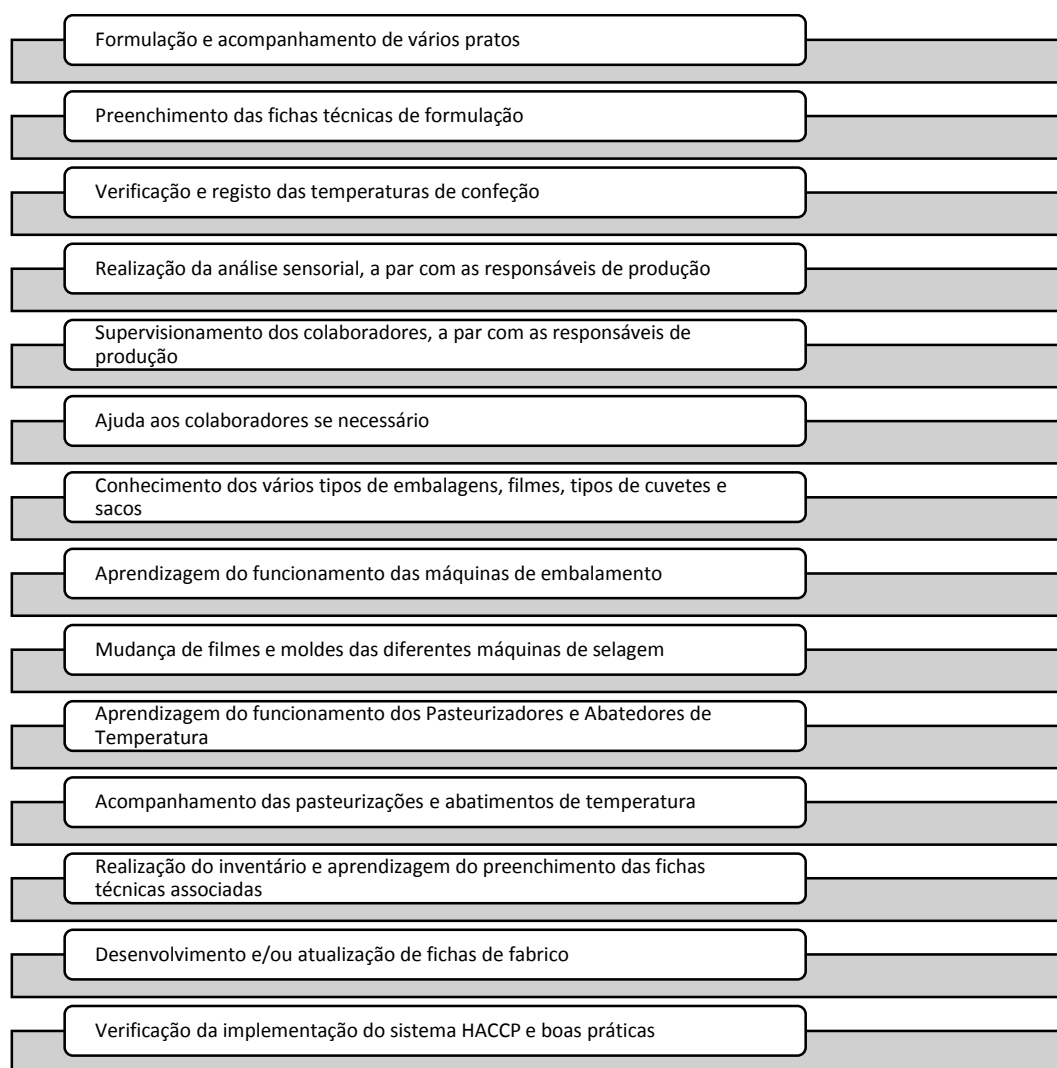


Figura 17 Tarefas desempenhadas durante o estágio na Centralrest, Lda.

### 5.1.1 Registo das temperaturas de confeção

As técnicas de processamento térmico utilizadas na indústria têm como objetivo melhorar a qualidade e segurança dos produtos alimentares prontos a comer, como também estender o seu prazo de validade. A confeção é uma das etapas produtivas fundamentais que inclui a transformação dos alimentos. Através do aquecimento, este processo altera a qualidade dos alimentos, destrói os microrganismos e inativa as enzimas com relevância para a segurança alimentar, presentes na matéria-prima crua (não processada). [86] Além disso, deve-se ter em conta que a destruição microbiana não depende apenas da temperatura, mas sim do tempo a que o alimento se encontra sujeito a determinada temperatura e da sua carga microbiológica inicial. Por isso, para assegurar a sua destruição durante o processo de confeção do alimento, a temperatura interna (ponto de aquecimento mais lento) deve ser superior a 75 °C. [87-89]

A Centralrest, Lda considera como limite crítico a temperatura de 75 °C. Caso algum dos produtos não apresente uma temperatura final de confeção igual ou superior a 75 °C, este não pode ser retirado do equipamento de confeção e não pode seguir para a fase de empratamento e selagem. A ação corretiva definida será novamente ligar a marmitta e deixar aquecer o produto até que a temperatura esteja dentro dos limites



estabelecidos.

Portanto, o supervisionamento e o acompanhamento da formulação das refeições mais produzidas foram realizados durante os primeiros 4 meses de estágio. Isto incluiu o acompanhamento do binómio (t, T) das temperaturas durante a confeção e o registo das temperaturas finais. No total foram recolhidos 494 registos (Tabela C.1 – Anexo C) correspondentes a 67 refeições prontas produzidas. As refeições prontas foram codificadas e divididas em 3 grupos base: 1. Produtos à base de Vegetais; 2. Produtos à base de Carne e 3. Produtos à base de Peixe (Tabela B.1 – Anexo B).

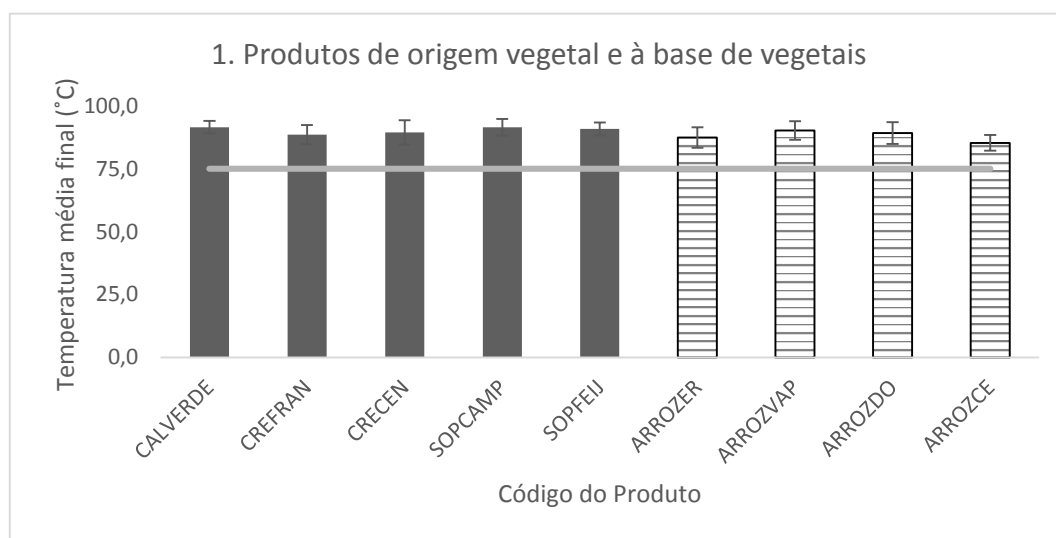


Figura 18: Temperaturas de confeção dos produtos: 1. Origem vegetal e à base de vegetais (■ à base de legumes; ▨ de origem vegetal).

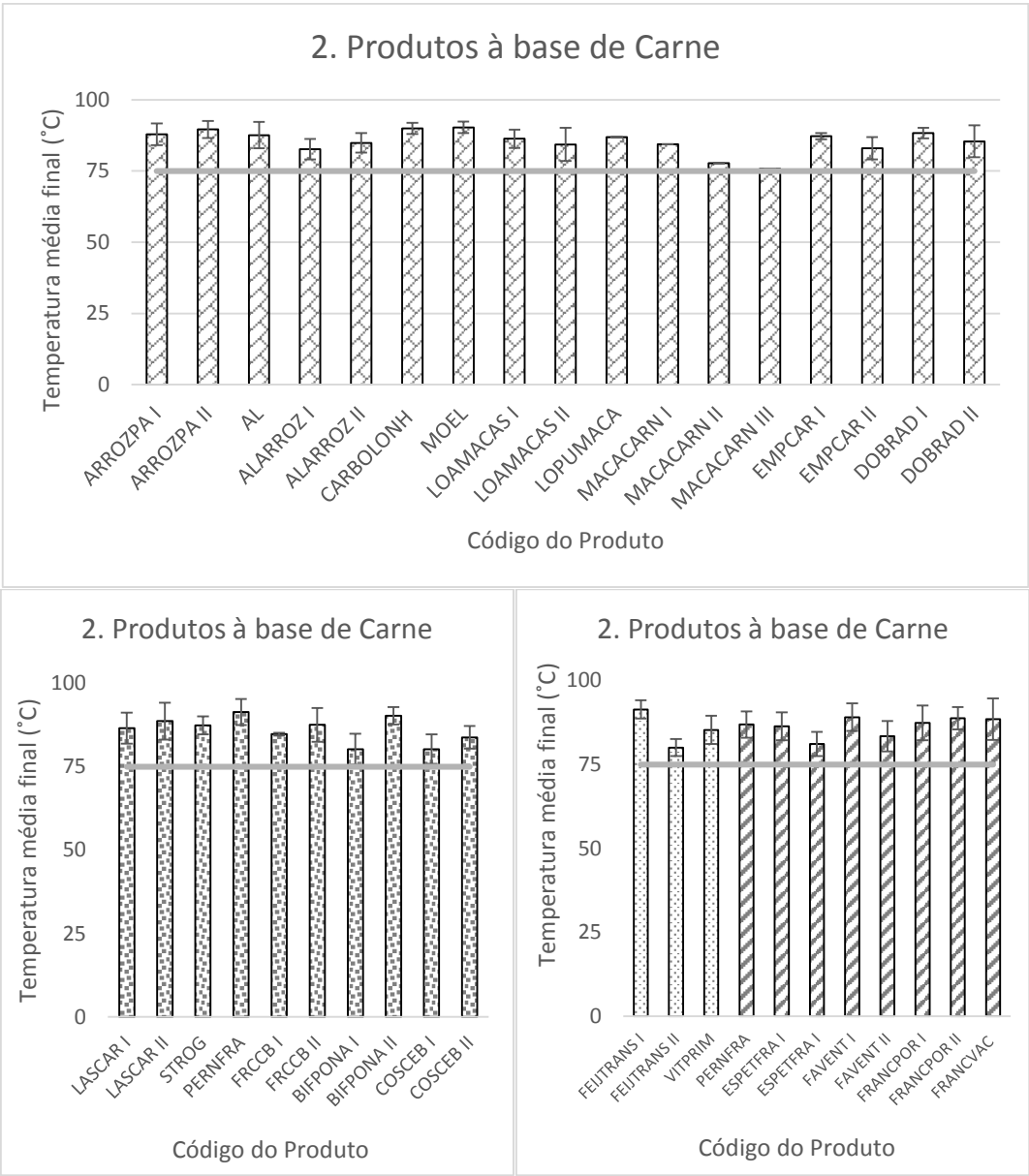


Figura 19: Temperaturas de confecção dos produtos: 2. Produtos à base de Carne (▨ cozidos, guisados ou estufados de Carnes; ▤ à base de carnes e vegetais/leguminosas; ▩ à base de carnes e produtos lácteos; ▧ à base de carne frita ou grelhada e pão);

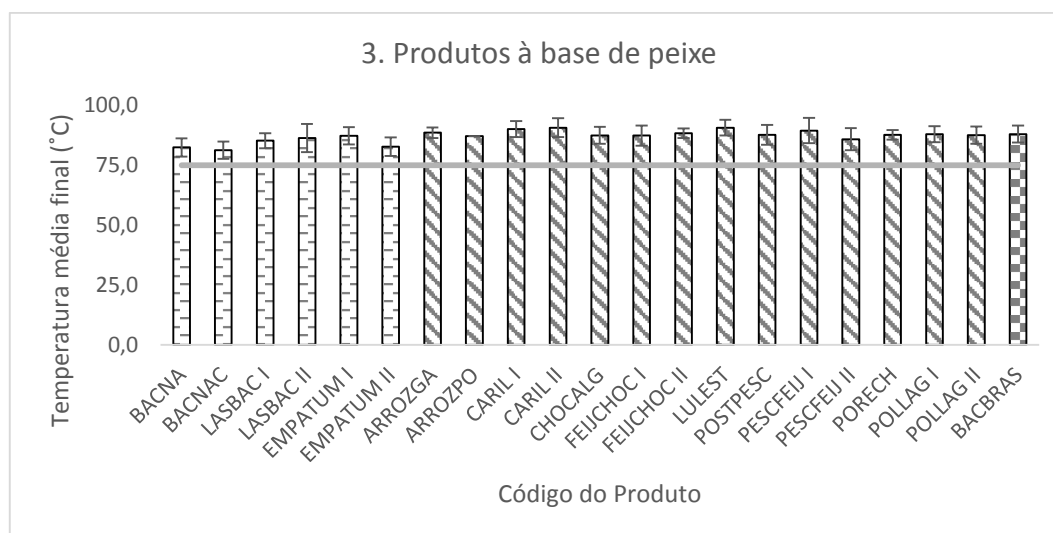


Figura 20 Temperaturas de confeção dos produtos: 3. Produtos à base de peixe (□ à base de peixe e produtos lácteos; ▨ cozidos, guisados ou estufados de produtos de mar; ▩ à base de peixe c/ elevado teor de gordura).

Como pode-se verificar pelos registos recolhidos (Figura 18, Figura 19 e Figura 20), a temperatura de confeção final é em média superior a 75 °C, e por isso, conclui-se que o limite estabelecido é cumprido na Centralrest, Lda.

### 5.1.2 Arrefecimento da temperatura dos produtos ultracongelados

O arrefecimento da temperatura dos produtos ultracongelados deve ser feito o mais rápido possível e de modo a limitar a permanência dos alimentos na gama de temperaturas críticas, entre os 10 e os 60 °C [23, 90, 91]. Na fábrica, está à disposição apenas 1 datalogger. Uma vez que este equipamento sofreu uma avaria, apenas foi possível recolher no total 38 registos (Tabela D.1 – Anexo D). De acordo com os dados recolhidos (Figura 21), verifica-se que a temperatura média inicial na maioria dos casos, encontra-se abaixo dos 60 °C, o que não permite saber durante quanto tempo cada refeição permanece na gama de temperatura crítica, entre os 60 °C e 10 °C.

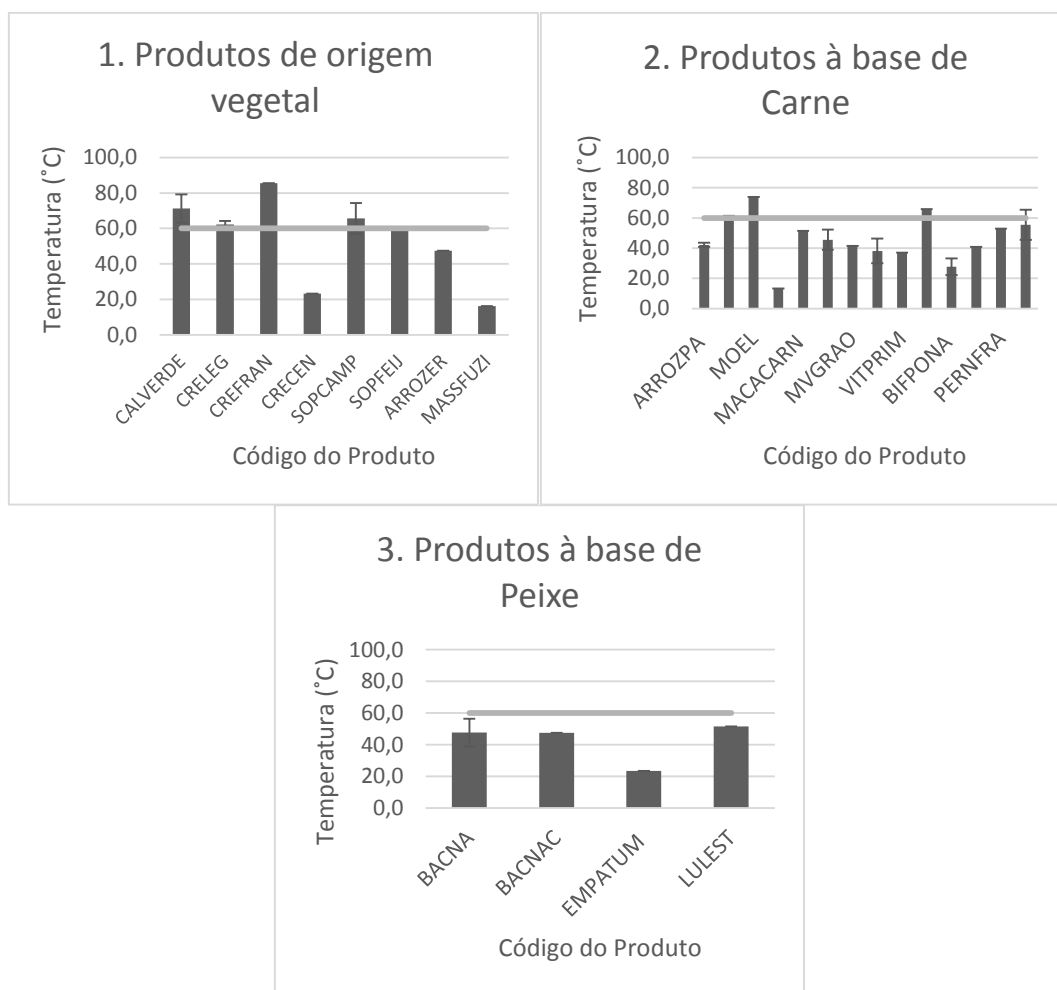


Figura 21: Temperatura média inicial para os vários registos recolhidos.

Por outro lado, nos produtos cuja temperatura média inicial se encontra acima dos 60 °C, excedem o período de 2 horas aconselhado pela ECFF (Tabela D.1 – Anexo D). Contudo, há que considerar que esta recolha de dados foi realizada numa época de produção muito intensa e portanto, estes resultados não resumem na totalidade a realidade na empresa. A produção da Centralrest, Lda, de acordo com o número de encomendas, varia sazonalmente e diariamente. Além disso, a dinâmica dos processos na produção depende de uma série de questões: 1) produção do dia; 2) tempo de espera entre o final da confeção e início do empratamento; 3) número de colaboradores disponíveis para empratar e a embalar; 4) rapidez de cada colaborador e 5) disponibilidade de equipamento.

No geral, o abatimento de temperatura ocorreu de forma lenta. No caso dos produtos de origem vegetal, o tempo total de abatimento foi em média de 12.8, 11.8, 9.3, 15.8, 9.3, 7.3, 10.8 e 6.6 horas para o CALVERDE, CRELEG, CREFRAN, CRECEN, SOPCAMP, SOPFEIJ, ARROZER e MASSFUZI, respetivamente (Figura 22).

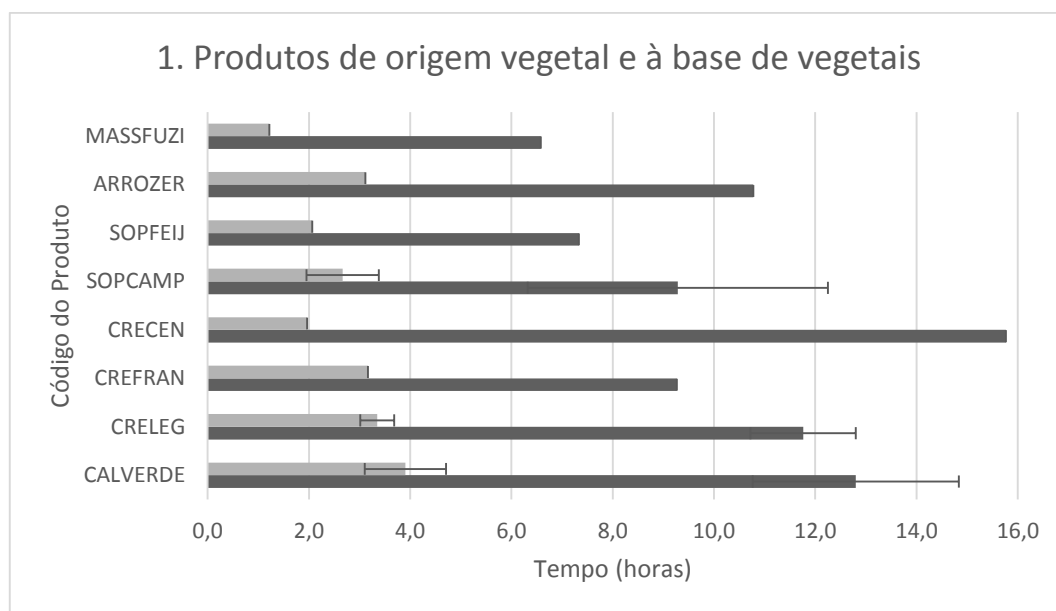


Figura 22: Abatimento de temperatura de produtos ultracongelados de origem vegetal e à base de vegetais: ■ tempo médio que demora a atingir os 10 °C; ■ tempo médio que no total demora atingir os -18 °C.

Nos produtos Cárneos (Figura 23), à base de carne, a descida de temperatura variou em média entre 6.1 horas (VITPRIM) e 24 horas (MACACARN). No caso de produtos à base de peixe (Figura 24), o tempo médio total variou entre as 13.4 (LULEST) e as 22.0 horas (EMPATUM).

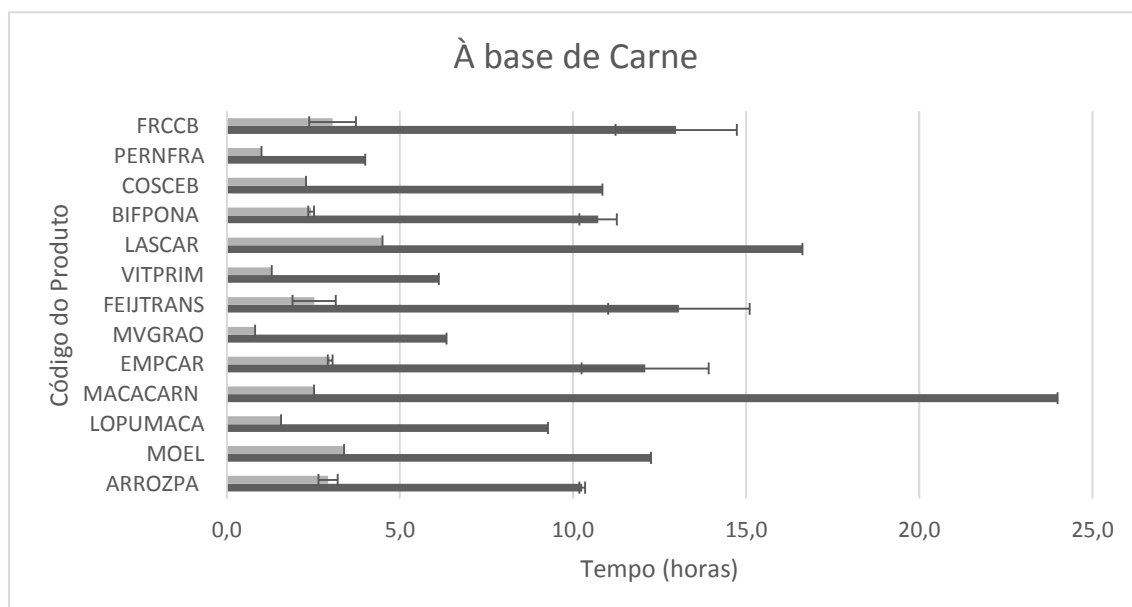


Figura 23: Abatimento de temperatura de produtos ultracongelados à base de Carne: ■ tempo médio que demora a atingir os 10 °C; ■ tempo médio que no total demora atingir os -18 °C.

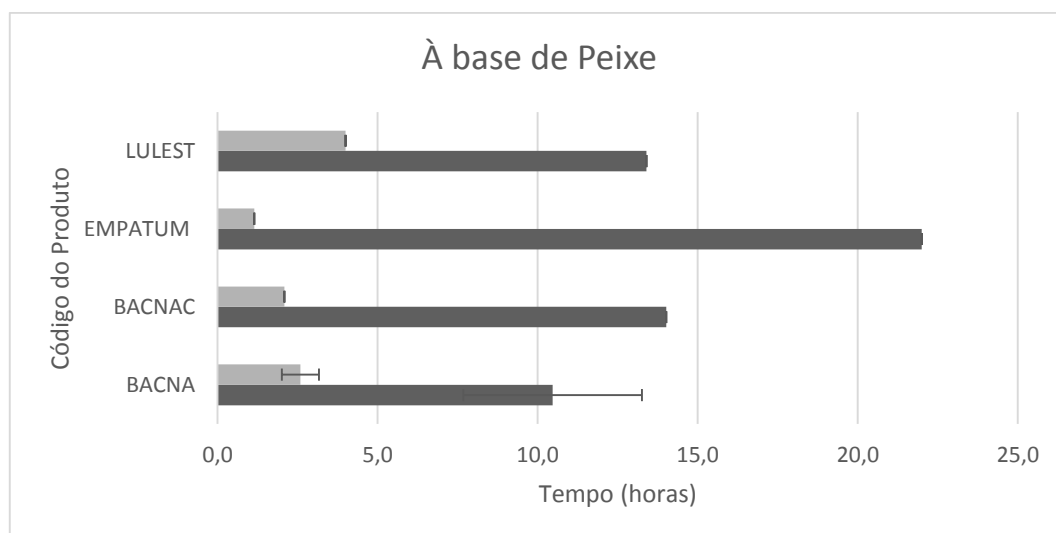


Figura 24: Abatimento de temperatura de produtos ultracongelados à base de Peixe: ■ tempo médio que demora a atingir os 10 °C; ■ tempo médio que no total demora atingir os -18 °C.

Contudo verificou-se que a temperatura de 10 °C nem sempre é rapidamente atingida. Isto significa que durante o abatimento destes produtos, a exposição a temperaturas não desejáveis nem sempre é mínima. Além disso, os dados permitem também verificar que a temperatura final pretendida (-18 °C) é sempre atingida. Isto corresponde a uma informação importante, pois permite garantir a suspensão de toda a atividade microbiana.

Seria importante fazer um levantamento de mais dados, para uma melhor compreensão dos resultados.

### 5.1.3 Desenvolvimento de documentos de fabrico

Em conjunto com o trabalho realizado na produção da empresa, foram desenvolvidos 31 documentos de fabrico (exemplo - Anexo E) para as refeições prontas atualmente mais produzidas.

Esta ficha técnica permitiu atualizar e compilar toda a informação referente a cada refeição pronta, incluindo assim o registo de todas as alterações que têm vindo a ser feitas na confeção. Contém também detalhadamente o procedimento de fabrico durante a confeção, quantidades a empratar, materiais e condições de selagem (tipo de cuvette ou saco, tipo de filme, máquina de selagem, temperatura, pressão) e condições de armazenagem. Ou seja, cada ficha contém todas as instruções de trabalho associadas à elaboração de cada produto, desde a preparação das matérias-primas até ao acondicionamento do produto final.

### 5.1.4 Otimização das Pasteurizações

Adicionalmente às tarefas inicialmente previstas para este estágio curricular, foi atribuída uma tarefa extra, já no término deste estágio, cujo objetivo seria a otimização do tempo de processamento empregue aos vários tipos de refeições, possibilitando assim a redução de custos, a otimização dos processos e melhoramento da qualidade das refeições produzidas. Verificou-se, após realização dos cálculos das reduções decimais atingidas, que em alguns casos, seria necessário realizar um ajuste no

processamento empregue.

O equipamento LAINOX, adquirido em 2006 pela Centralrest, Lda à empresa espanhola ILPRA systems, encontra-se validado desde então, de acordo com legislação francesa, que recomenda 1000 UP. Este pasteurizador está programado para a medição e conversão dos valores registados continuamente para UP, com base na medição da temperatura interna do produto e a temperatura do forno ao longo do tempo.

Este cálculo é realizado por um algoritmo implementado num controlador adjunto ao pasteurizador. O algoritmo utiliza a equação da letalidade ( $L = 10^{\frac{(T-T_0)}{z}}$ ) (Equação 4), considerando  $T_{ref} = 70\text{ °C}$  e  $z = 10$ , para criar uma base de dados de valores UP para várias temperaturas de processamento (Tabela F.1 – Anexo F). Esta relação permite assim ao algoritmo estabelecer uma relação entre UP e a temperatura de processamento. De acordo com validações já realizadas pela empresa Centralrest, Lda e ILPRA systems, um tratamento térmico de 1000 UP permite atribuir às refeições prontas 42 dias de prazo de validade.

O Pasteurizador JUMO não funciona da mesma forma. Este equipamento apenas regista a variação da temperatura interna do alimento e do pasteurizador, a cada minuto. Este equipamento não está apto a fazer uma conversão contínua e por isso, foi necessário definir o binómio (t, T) para a Estufa. Este apenas considera o tempo ao qual o alimento está sujeito a uma temperatura constante e considera que o tratamento aplicado terá que ser equivalente ao utilizado no pasteurizador LAINOX.

Posto isto, a Centralrest, Lda definiu que exposto o produto a um tratamento de 32 minutos a  $85\text{ °C}$ , seria equivalente a 1000 minutos (1000 UP no pasteurizador LAINOX).

Os dados fornecidos pela direção da produção mostram que os valores de D atingidos nos diferentes lotes encontram-se, em alguns casos, acima das 6D pretendidas. Por isso, foi lançado o desafio em fazer um ajuste ao processamento já usado. Este ajuste foi feito com base na análise dos dados referentes às Pasteurizações de 2013. Devido à impossibilidade de estudar todas as refeições, foram selecionadas as refeições cujo interesse seria maior em proceder à sua otimização (Tabela 9). No total foram estudados 93 lotes, correspondentes a 15 refeições. Para a análise, foram respeitadas as condições mínimas definidas pela empresa ( $T_{ref} = 85\text{ °C}$ ;  $z=10$ ).

Em cada refeição foi considerada a situação mais crítica, ou seja, o tempo mínimo necessário que permite atingir as 6 reduções decimais.

Os resultados indicam que para atingir as 6D não é necessário o tempo total de tratamento administrado. No caso do bacalhau com Natas 5,0 kg, apenas se atingem os  $70\text{ °C}$  no núcleo do alimento em média ao fim de 132 minutos. No entanto, após esse aquecimento, necessitam-se de 160 minutos de processamento (Figura 25) para atingir as 6D.

## 5 Resultados e Discussão

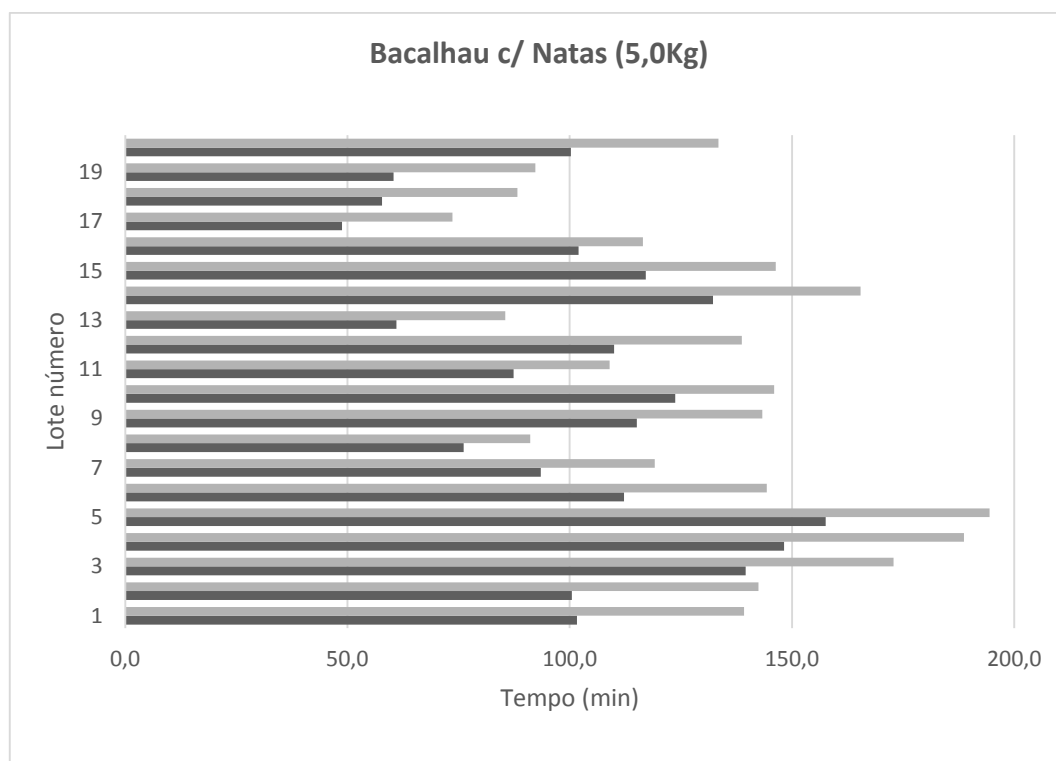


Figura 25: Tempo de processamento do produto Bacalhau com Natas 5,0 kg ( $T \geq 70^\circ\text{C}$ ): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.

Isto obviamente varia entre os lotes, pois a temperatura inicial no núcleo da refeição difere de lote para lote e portanto isso reflete-se no tempo total de processamento.

No caso de produtos de 2,5 kg, como Creme de Alho Francês e Creme de Cenoura, em média os  $70^\circ\text{C}$  são atingidos ao fim de 29 e 28 minutos, respetivamente. Após os  $70^\circ\text{C}$ , é preciso apenas processar durante 70 (Creme de Alho Francês) e 78 (Creme de Cenoura) minutos (Figura 26).

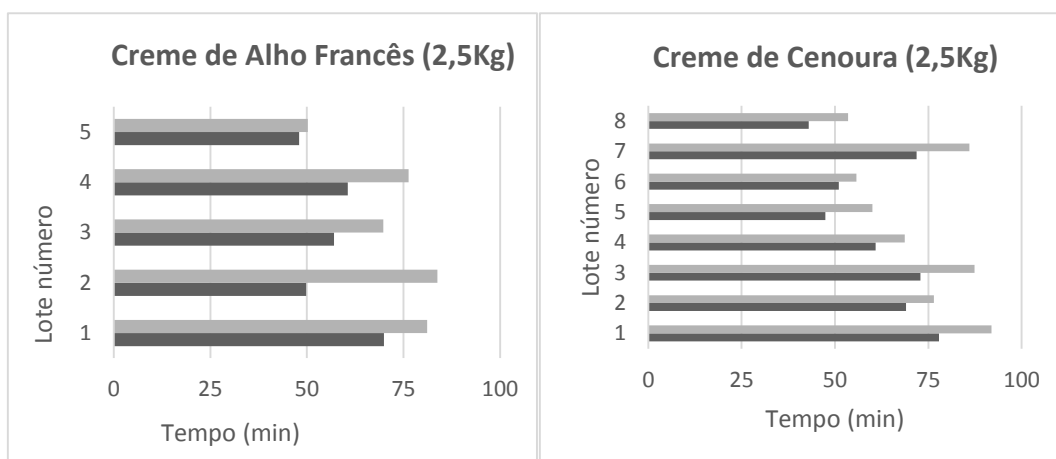


Figura 26: Tempo de processamento dos produtos Creme de Alho Francês 2,5 kg e Creme de Cenoura 2,5 kg ( $T \geq 70^\circ\text{C}$ ): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.

Produtos de 2,0 kg atingem os  $70^\circ\text{C}$  ao fim de 21 (Lasanha de Carne), 15 (Moelas), 14 (Bacalhau c/ Natas) e 32 minutos (Almôndegas). Para atingir as 6 reduções decimais, são necessários um processamento de 79 (Lasanha de Carne), 77 (Moelas de Frango), 79 (Almôndegas) e 85 (Bacalhau c/ Natas) minutos – (Figura 27).



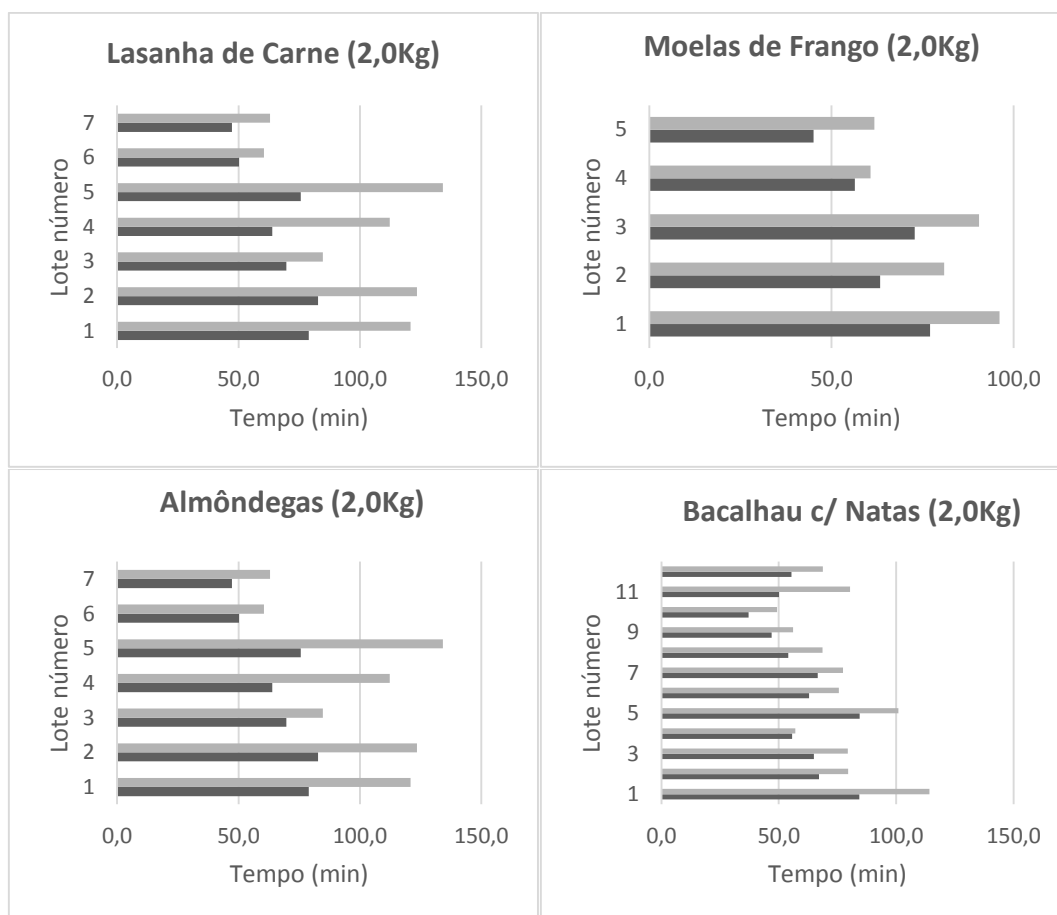


Figura 27: Tempo de processamento dos produtos Lasanha de Carne 2,0 kg, Moelas de Frango 2,0 kg, Almôndegas 2,0kg e Bacalhau c/ Natas 2,0kg ( $T \geq 70^\circ\text{C}$ ):  Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda;  Tempo processamento necessário para atingir as 6D.

Refeições de 1,0 kg, como a Lasanha de Carne e Almôndegas, necessitam em média de 27 e 45 minutos para atingir as 6D.

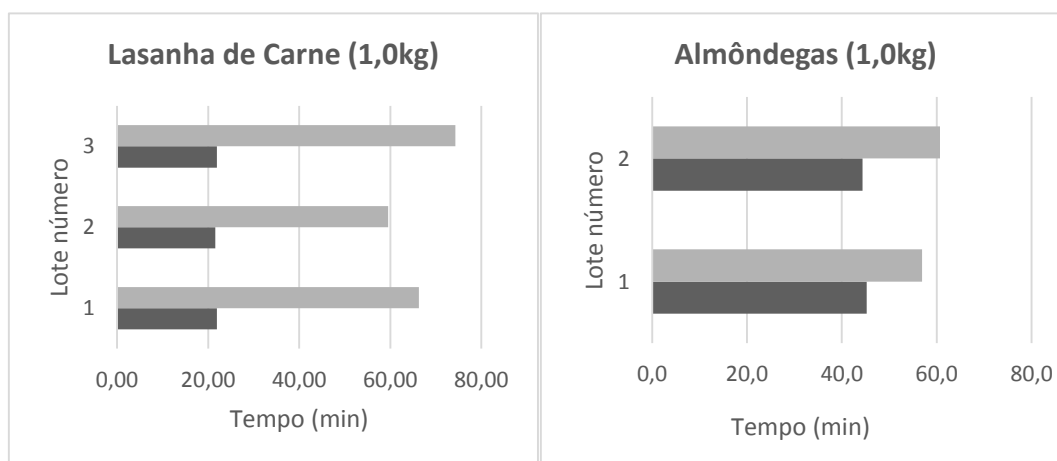


Figura 28: Tempo de processamento dos produtos Lasanha de Carne 1,0kg e Almôndegas 1,0kg ( $T \geq 70^\circ\text{C}$ ):  Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda;  Tempo processamento necessário para atingir as 6D.

As refeições mais pequenas de 300g demoram em média, para atingir os  $70^\circ\text{C}$ , entre 10 a 16 minutos. Basta um tratamento de 47 (Creme de Cenoura), 57 (Bac. c/ Natas), 47 (Arroz de Pato) e 54 (Bac. à Brás) minutos - Figura 29.

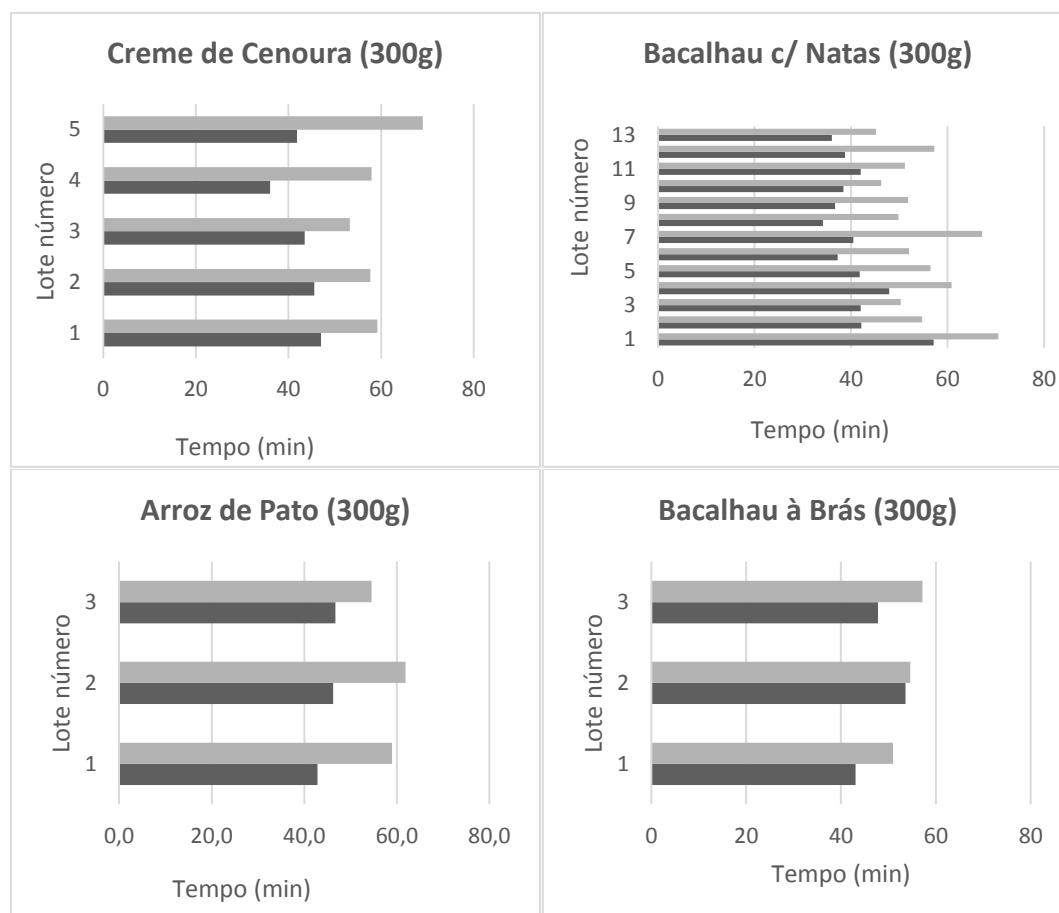


Figura 29: Tempo de processamento dos produtos Crema de Cenoura 300g, Bacalhau com Natas 300g, Arroz de Pato 300g e Bacalhau à Brás 300g ( $T \geq 70^\circ\text{C}$ ): ■ Tempo total de processamento empregue pela Centralrest, Lda; ■ Tempo processamento necessário para atingir as 6D.

Os resultados das reduções decimais atingidas (Tabela G.1, Tabela G.2, Tabela G.3, Tabela G.4 – Anexo G) mostram claramente que os alimentos, durante a subida de temperatura, estão continuamente a ser pasteurizados. A simplificação adotada, na definição do programa de pasteurização a utilizar na estufa, conduz à sobre-pasteurização das refeições. Consequentemente, isto leva a um aumento de consumo energético, conduz à perda de tempo e à perda de características nutricionais. Conclui-se portanto, que se for considerada a subida de temperatura até aos  $85^\circ\text{C}$ , é possível ajustar no tempo de processamento.

## 5.2 Processamento de lagosta selvagem

Para estudar as alterações bioquímicas associadas ao processamento de lagosta selvagem foram realizadas várias análises a três tipos de amostras (Tabela 11). Adicionalmente, para seguir a atividade enzimática, foi descongelado um conjunto de amostras antes do processamento.

Para ajudar a perceber de que forma a atividade da PPO e das proteases afeta o escurecimento enzimático foram primeiramente recolhidas a variação da temperatura interna da lagosta durante a descongelação (Figura 30) para o processamento A (Ensaio 1) e Processamento B (Ensaio 2), e durante a confeção (Figura 31). A descongelação foi realizada antes da confeção, numa câmara frigorífica onde a temperatura ronda os  $4^\circ\text{C}$ , demorando no total 24 horas (Figura 30).

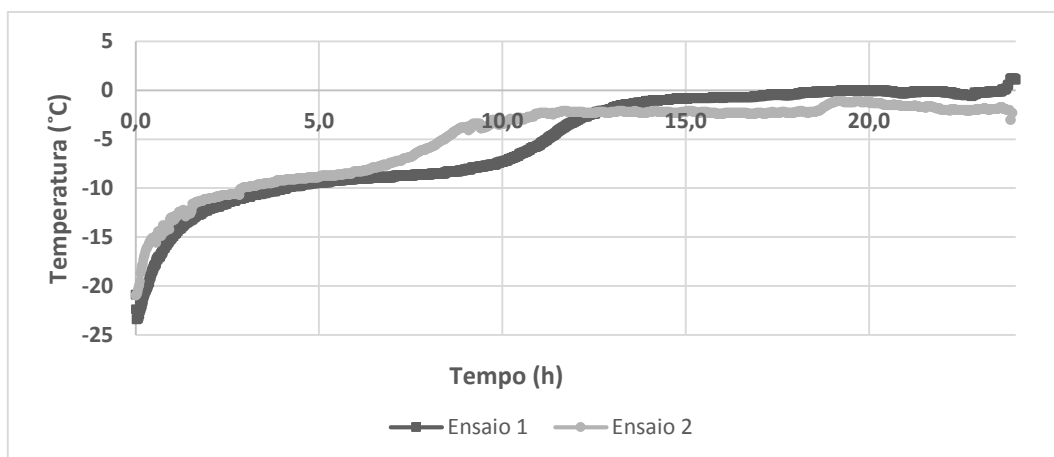


Figura 30: Variação da temperatura interna da Lagosta durante a descongelação prévia de 24h.

Também a variação da temperatura interna na lagosta durante o processamento (Figura 31), para ambas as condições de processamento, foi registada em duplicado.

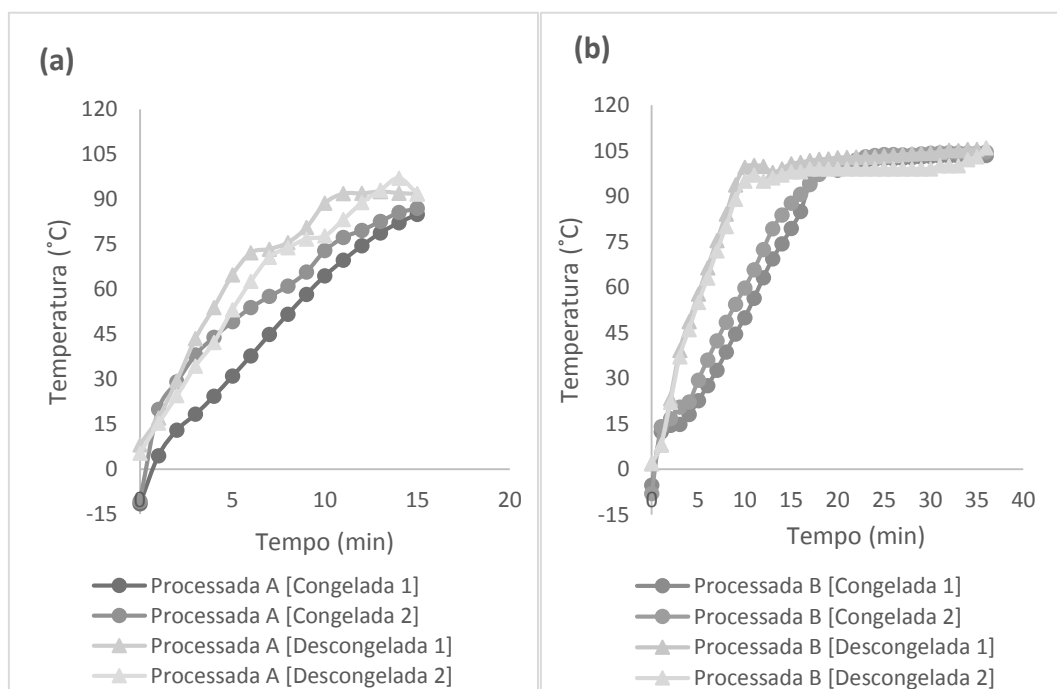


Figura 31 Variação da temperatura interna durante a confeção: (a) Processamento A; (b) Processamento B;

Durante o processamento, as medições de temperatura interna da lagosta indicam que em média a lagosta descongelada demora 10 minutos para atingir os 100 °C e a congelada 19 minutos. O processamento B implica um maior tempo de exposição a uma temperatura superior as 90 °C, que por sua vez é a gama de temperatura pretendida para a inativação da PPO e das proteases. O processamento A não permite manter as amostras durante um longo intervalo de tempo acima dos 90 °C.

## 5.2.1 Análise Enzimática

### 5.2.1.1 Atividade Proteolítica

Os resultados obtidos confirmam a presença de atividade proteolítica em todas as amostras analisadas (Figura 32). Na lagosta crua, tal como era de esperar, existe maior atividade proteolítica. De acordo com os resultados, tanto na lagosta crua, como na processada, a atividade proteolítica é sempre maior no cefalotórax do que no abdómen. No entanto essa diferença nem sempre é estatisticamente significativa (Processamento B e Processamento B [descongelada]).

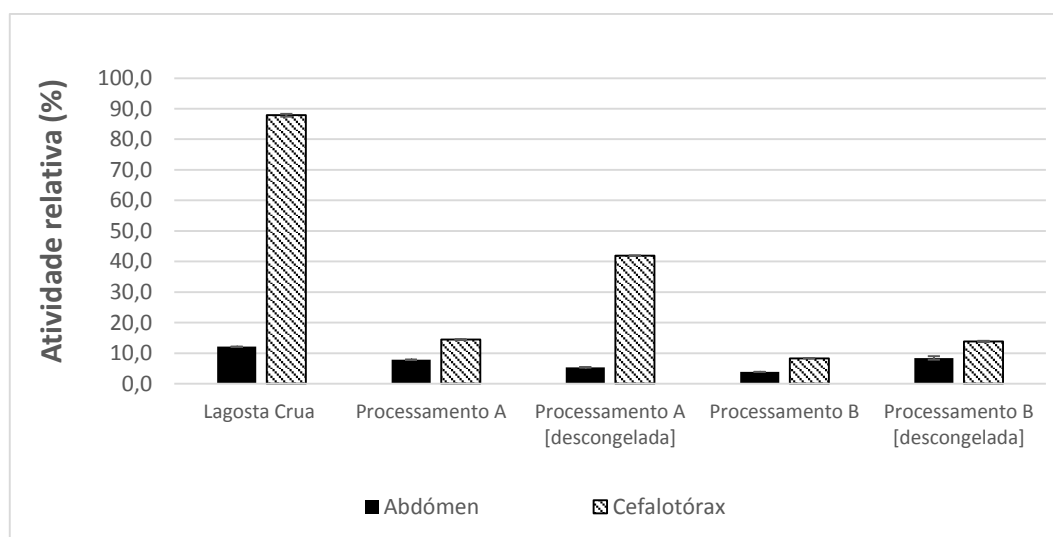


Figura 32 Atividade proteolítica das várias amostras analisadas.

De um modo geral, verifica-se que o aumento do tempo de processamento conduz a uma diminuição da atividade proteolítica, o que indica que as enzimas sofreram uma inativação progressiva provocada pelo aumento da temperatura.

O processamento de 15 minutos reduz a atividade proteolítica relativa no cefalotórax de 87% para 15%, o que já é relativamente significativo. Já o processamento de 36 minutos reduz a atividade proteolítica relativa para 8%. A descongelação prévia indica que as enzimas ficam particularmente mais ativas, observando-se uma maior atividade proteolítica comparativamente às amostras desenvolvidas com lagosta congelada. Cuidados devem ser tomados, não só sob o ponto de vista microbiológico, mas também com a atividade enzimática remanescente.

Estes resultados sugerem que proteases endógenas da lagosta podem estar envolvidas na regulação dos mecanismos de ativação da PPO e estar associadas à perda de qualidade relatada ao nível da textura. [74] Seria interessante analisar a estrutura dos tecidos da lagosta crua e processada, através da utilização de técnicas microscópicas como SEM e TEM.

### 5.2.1.2 Atividade PPO

De acordo com os resultados (Figura 33) verifica-se a presença da PPO na lagosta selvagem, contudo as diferenças entre a atividade no cefalotórax e no abdómen não são

significativas ( $p > 0.05$ ). Os resultados sugerem que o processamento permite diminuir a atividade da PPO, verificando-se diferenças significativas entre as amostras de lagosta crua e processada ( $p < 0.05$ ).

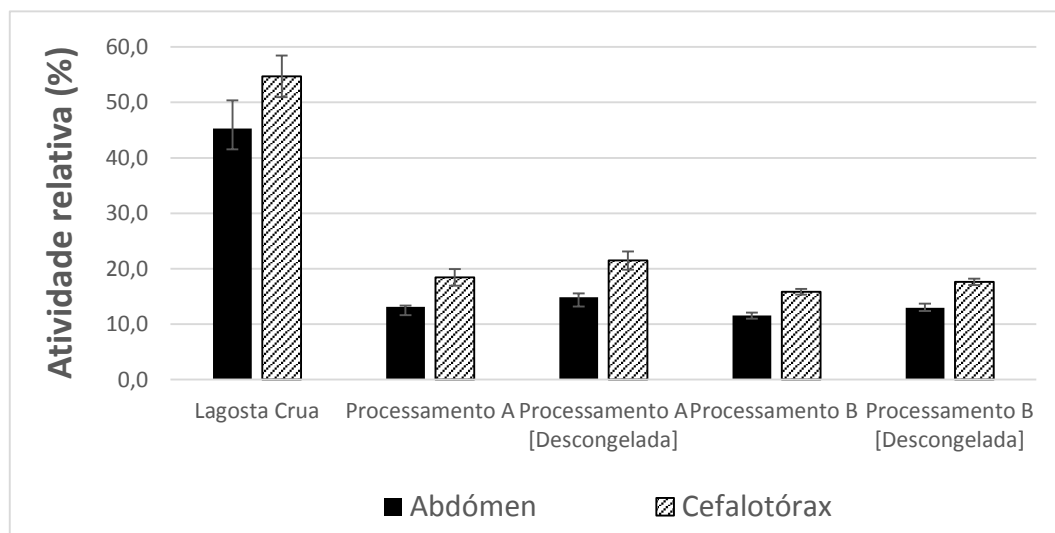


Figura 33 Atividade relativa da PPO das diferentes amostras estudadas.

A atividade relativa da PPO no cefalotórax e no abdómen diminui com o aumento do tempo de processamento. No entanto, embora o processamento industrial usualmente empregue pela indústria seja suficiente para garantir a segurança alimentar, não é suficiente para prevenir a melanose em lagosta (imagens – Anexo H).

Em termos gerais o processamento B permite atingir menores níveis de atividade. Observa-se uma diminuição da atividade relativa no cefalotórax de 55% para 19% (processamento A) e até 16% no processamento B. No abdómen o comportamento é semelhante. Os ensaios da descongelação prévia indicam que as enzimas subsistem ativas. Isto mostra que é preciso ter atenção, tanto do ponto de vista microbiológico, como do ponto de vista enzimático.

## 5.2.2 Análise da Oxidação Lipídica

### 5.2.2.1 Determinação do teor de malonaldeído

Na fase da formulação das refeições prontas de lagosta, suspeitou-se que a matéria-prima utilizada estaria parcialmente alterada devido ao aroma rançoso que apresentava. Por isso foram realizadas análises de modo a perceber se as suspeitas se confirmavam. A oxidação lipídica foi analisada, em triplicado, a duas amostras diferentes de lagosta crua: Lagosta [lote Crest]; 2. Lagosta [novo lote] (Figura J.1 e Figura J.2 – Anexo J.)

Através do teste TBARS e a partir a equação da reta de calibração (Figura K.1 – Anexo K) determinou-se a concentração de MDA nas amostras, sabendo que 2 moles de TBA reagem com 1 mole de MDA. De acordo com os resultados (Figura 34), a Lagosta Crest encontra-se mais oxidada que a lagosta do novo lote. A análise estatística indica que as diferenças do teor de MDA, entre o cefalotórax das diferentes amostras, são significativas ( $p < 0.05$ ). O mesmo se verifica para o abdómen.

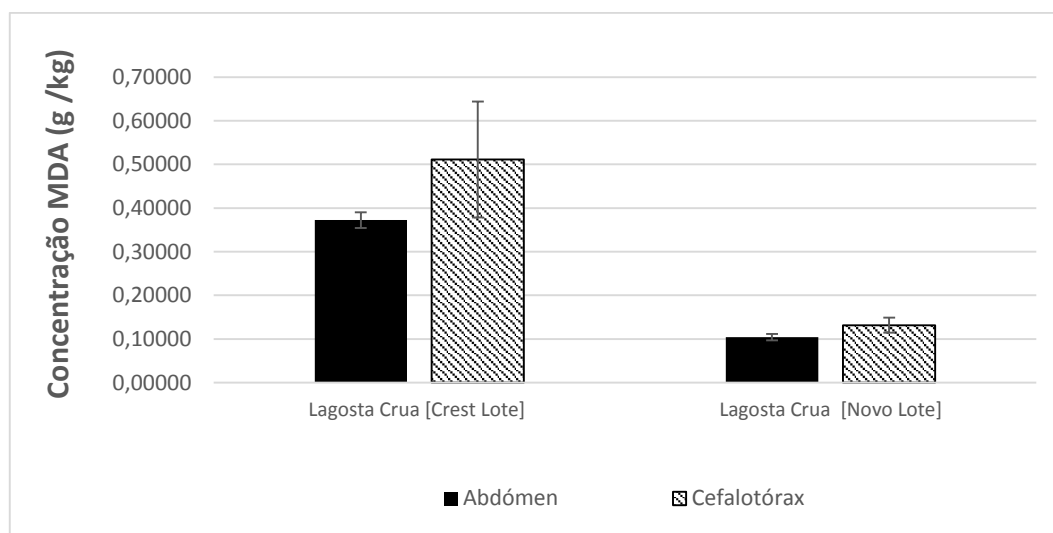


Figura 34: Concentração de MDA nas diferentes amostras analisadas.

Portanto, conclui-se que o teor de MDA na lagosta da Centralrest é maior comparativamente à nova lagosta fornecida pela Friip, sendo esta diferença estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

Apesar de a congelação estabilizar microbiologicamente a Lagosta e conferir-lhe um maior prazo de validade, as reações químicas e enzimáticas prosseguem lentamente nesta gama de temperaturas e, a longo prazo, reduz a sua qualidade. A lagosta usada pela Centralrest, Lda é fornecida pela Friopesca. Toda ela chega às instalações da empresa inteira. No entanto, após a sua receção, ela sofre um corte longitudinal, e é novamente armazenada até à sua utilização. Isto leva a crer que esse será o motivo pelo qual a lagosta está mais oxidada. A carapaça rígida, característica destes crustáceos, protege os tecidos contra a oxidação e consequentemente atenua a sua deterioração. Sendo esta cortada, a lagosta fica mais suscetível a uma mais rápida oxidação, uma vez que não está tão protegida. Por isso, recomenda-se que o corte longitudinal seja feito apenas no dia em que se irá utilizar a matéria-prima.

### 5.2.3 Análise Sensorial

A análise sensorial foi realizada pelo painel de provadores de uma empresa do sector alimentar: Frina – pertencente ao grupo Friopesca. O painel é constituído por um grupo de 7 provadores treinados e habituados a analisar este tipo de produtos. Esta análise incluiu no total a avaliação da cor, sabor, aroma, textura, cheiro e aceitação global (Folha de Prova – Anexo L). Para caracterizar as diferentes amostras foi utilizada uma escala de 1 a 9.

Em termos gerais, as lagostas congeladas, processadas pelo programa industrial, são as amostras que apresentam uma melhor avaliação referente à aceitação e características sensoriais (Figura 35).

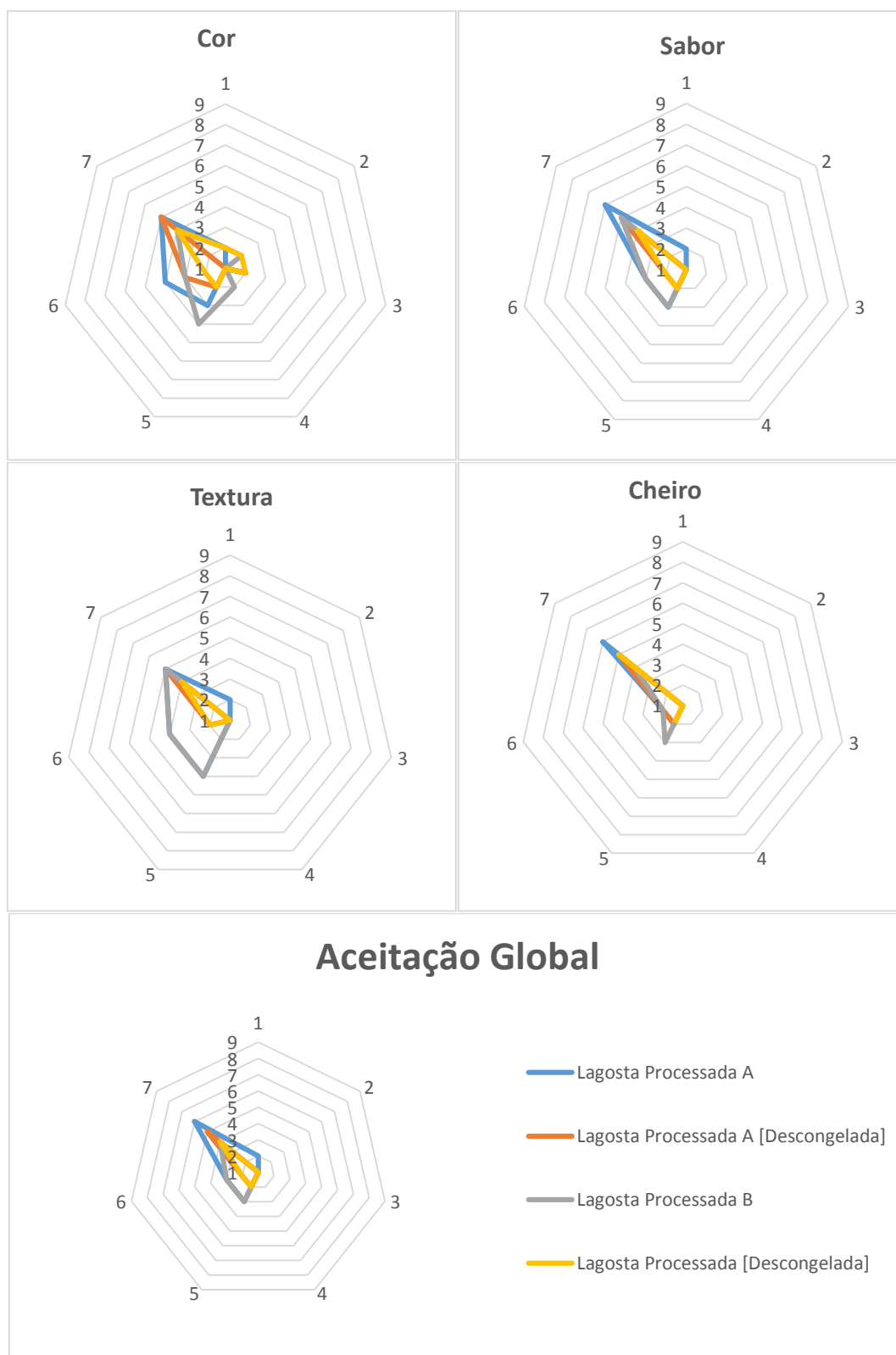


Figura 35: Resultados da análise sumária das diferentes amostras produzidas. 1 a 7- número do provador; Escala de 1 a 9: 1. desgostei muitíssimo; 2. desgostei muito; 3. desgostei moderadamente; 4. desgostei ligeiramente; 5. nem gostei, nem desgostei; 6. gostei ligeiramente; 7. gostei moderadamente; 8. gostei muito; 9. gostei muitíssimo.

Relativamente à cor, as amostras mais apreciadas são novamente as lagostas congeladas, em ambos os programas. No entanto, em termos de textura, continua a ser o programa usado pela empresa o que apresenta produtos com melhor classificação

## **5 Resultados e Discussão**

organolética. Em relação ao cheiro e ao sabor não há nenhuma amostra que apresente melhores características, de acordo com a avaliação dos provadores.



## 6. Conclusão

Diariamente a Centralrest, Lda esforça-se em responder às necessidades e exigências dos seus clientes. Esta empresa mostra que é possível assegurar a qualidade alimentar, através da adoção de um Sistema de Qualidade adequado, com uma estrutura organizada, com responsabilidades, processos e procedimentos. Esta PME respeita diariamente as normas de higiene e segurança alimentar. É possível verificar que toda a linha de produção, desde a confeção até à refrigeração ou congelação, é gerida de forma a respeitar as práticas de segurança e qualidade alimentar. Atualmente já não são efetuados controlos microbiológicos nas instalações da empresa, mas sim realizados controlos em laboratórios contratados, com base na implementação do sistema HACCP.

Conclui-se que uma conservação adequada das refeições prontas produzidas é fundamental para evitar a deterioração, assegurar a segurança alimentar e estender assim o seu prazo de validade. Verificou-se que a temperatura de confeção final é em média superior a 75 °C, e por isso, pode-se concluir que o limite estabelecido é cumprido na Centralrest, Lda. No geral, o abatimento de temperatura ocorreu de forma lenta. Por outro lado, a temperatura final de -18 °C é sempre atingida, o que por si só é importante, pois permite garantir a suspensão de toda a atividade microbiana. A otimização do tempo de processamento aplicado nas pasteurizações é possível se a subida de temperatura até aos 85 °C for considerada no cálculo.

Relativamente à lagosta, verificou-se que tanto na lagosta crua, como na processada, a atividade proteolítica é sempre maior no cefalotórax do que no abdómen. Conclui-se que o aumento do tempo de processamento conduz a uma diminuição da atividade proteolítica, o que sugere que as enzimas sofreram uma inativação progressiva. O processamento de 15 minutos, da lagosta congelada, reduz a atividade proteolítica relativa no cefalotórax de 87% para 15%. Já o processamento de 36 minutos reduz a atividade proteolítica relativa para um valor de 8%. A descongelação prévia indica que as enzimas ficam particularmente mais ativas, observando-se uma maior atividade

## 6 Conclusão

proteolítica. Cuidados devem ser tomados, com a atividade enzimática remanescente, uma vez que estudos sugerem que proteases endógenas dos crustáceos regulam os mecanismos de ativação da PPO.

Confirmou-se que o processamento empregue pela indústria, apesar de garantir a segurança alimentar, não é suficiente para prevenir a melanose na lagosta. A atividade relativa da PPO no cefalotórax e no abdómen diminui com o aumento do tempo de processamento. Observou-se uma diminuição da atividade relativa no cefalotórax de 55% para 19% (processamento A) e para 16% processamento B, sendo o comportamento no abdómen semelhante.

Confirmou-se a suspeita relativamente à oxidação da lagosta usada na Centralrest, Lda. Apesar de a congelação permitir estabilizar microbiologicamente a matéria-prima e conferir-lhe um maior prazo de validade, a oxidação lipídica prossegue lentamente nesta gama de temperaturas e, a longo prazo, reduz a sua qualidade. Portanto, recomenda-se que o corte longitudinal seja feito apenas no dia em que se irá utilizar a matéria-prima, de forma a combater a oxidação e o desenvolvimento dos sabores e aromas desagradáveis. O corte da lagosta só no momento do processamento também pode diminuir a atividade da PPO, visto que limita o acesso de oxigénio à enzima.

Em termos gerais, as Lagostas congeladas foram as amostras que apresentaram uma melhor aceitação e características sensoriais.

## 7. Trabalho Futuro

Como trabalho futuro destaca-se a necessidade de recolher um maior número de registos para a congelação de produtos ultracongelados, para recolher mais informação.

O prazo de validade das refeições pasteurizadas terá que ser validado, caso seja adotado o ajuste do processamento determinado neste trabalho. Seria importante realizar o mesmo ajuste para as restantes refeições, que não foram incluídas neste trabalho. Seria útil implementar um programa *online* que permitisse o cálculo das UP e reduções decimais atingidas, para possibilitar uma melhor gestão dos processos.

Relativamente à Lagosta, seria interessante experimentar um programa de confeção novo, com um novo lote de lagosta, para tirar mais conclusões e realizar uma nova análise sensorial. Adicionalmente deveriam ser feitas em paralelo análises microbiológicas à matéria-prima crua e processada.



# Referências Bibliográficas

1. Monteiro, I. *CentralRest*. 2010 [cited 2013 28-12-2013]; Available from: <http://www.irmaosmonteiro.pt/CentralRest.aspx>.
2. Monteiro, I. *História*. 2010 [cited 2013 28-12-2013]; Available from: <http://www.irmaosmonteiro.pt/Institucional/historia.aspx>.
3. Monteiro, I. *Catálogo de Produtos*. 2010 [cited 2013 28-12-2013]; Available from: <http://irmaosmonteiro.pontoc.pt/CatProdutos/fichaProd.aspx?collocationID=5>.
4. Sun, D.W., *Thermal Processing of Ready Meals*, in *Thermal Food Processing: New technology And Quality Issues*. 2006: Taylor & Francis Group. p. 363 - 386.
5. Monteiro, I. *As nossas Marcas*. 2010 [cited 2013 28-12-2013]; Available from: <http://irmaosmonteiro.pontoc.pt/Institucional/Marcas.aspx>.
6. IAPMEI. *Melhores PME do ano distinguidas com o Estatuto PME Excelência'11*. 2011 28-12-2013]; Available from: [http://www.iapmei.pt/iapmei-not-02.php?noticia\\_id=957](http://www.iapmei.pt/iapmei-not-02.php?noticia_id=957).
7. Sutherland, A.H.V.J.P., *Cooked meat and cooked meat products*, in *Meat and Meat Products: Technology, Chemistry and Microbiology*. 1995, Chapman & Hall: London. p. 224-297.
8. Fellows, P.J., *Properties of foods and processing theory*, in *Food Processing Technology: Principles and Practice*, Cambridge, Editor. 2000, Woodhead Publishing Limited. p. 9 - 62.
9. Stringer, M. and C. Dennis, *Chilled Foods: A Comprehensive Guide*. 2000, CRC Press.
10. Sun, D.W., *Thermal Food Processing: New Technologies And Quality Issues*. 2006: Taylor & Francis Group.
11. Fellows, P.J., *Water activity*, in *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 2000, Woodhead Publishing Limited: Cambridge p. 44 - 47.
12. Marcotte, H.R.M., *Thermal Processing*, in *Food Processing Principles and Applications*. 2006, Taylor & Francis Group: USA. p. 67-168.
13. Vieira, E.R., *Elementary Food Science*. 1999: Springer.
14. Tewari, G. and V. Juneja, *Basic Food Microbiology*, in *Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation*. 2008, Wiley. p. 35-166.
15. Schieberle, H.D.B.W.G.P., *Amino Acids, Peptides, Proteins*, in *Food Chemistry*. 2009, Springer: Berlin. p. 8-89.
16. Ramaswamy, H. and M. Marcotte, *Thermal Processing*, in *Food Processing Principles and Applications*. 2006, CRC Press Taylor & Francis Group. p. 67-168.
17. Gould, G.W., *Methods for preservation and extension of shelf life*. International Journal of Food Microbiology, 1996. **33**(1): p. 51-64.
18. Ramaswamy, H.S., *Food Processing Principles and Applications*, C. Press, Editor. 2006.
19. Oliveira, M.F., *Evolução da carga microbiológica de uma refeição pré-cozinhada – Resultados experimentais e Microbiologia Preditiva*, Tese de Mestrado, in *Departamento de Química*. 2009, Universidade de Aveiro: Aveiro.
20. Fellows, P.J., *Pasteurisation*, in *Food Processing Technology Principles and Practice*. 2000, Cambridge: Woodhead Publishing Limited. p. 241-249.
21. Stumbo, C.R., *Thermobacteriology in food processing*. 1973: Academic Press.
22. FDA, *Fish and Fishery Products: Hazards and Controls Guidance*. 4th Edition ed. 2011, Washington DC: DIANE Publishing Company.
23. ECFF, *Recommendations for the production of prepackaged chilled food*. 2nd edition ed. 2006, Finland European Chilled Food Federation.
24. Kendal, P., *Botulism*, in *Food Safety*. 2012: Food and Nutrition Series. p. 1-3.
25. Alan H. Varnam, J.P.S., *Cooked meat and cooked meat products*, in *Meat and Meat Products: Technology, Chemistry and Microbiology*. 1995, Chapman & Hall: London. p. 224-297.
26. Ramaswamy, H. and M. Marcotte, *Low-Temperature Preservation*, in *Food Processing: Principles and Applications*. 2006, Taylor & Francis Group: USA. p. 169-232.
27. Sutherland, A.V.J., *Frozen meat and meat products*, in *Meat and Meat Products Technology, Chemistry and Microbiology*. 1995, Chapman & Hall: London. p. 355-386.
28. Tewari, G. and V.K. Juneja, *Sous Vide and Cook-Chill Processing of Foods: Concept Development and Microbiological Safety*, in *Advances in Thermal and Non-Thermal Food Preservation*. 2007: Blackwell Publishing. p. 145 -161.
29. Fellows, P.J., *Food safety, good manufacturing practice and quality assurance*, in *Food Processing Technology: Principles and Practice*. 2000. p. 52-55.

30. Allen, J. and R. Hamilton, *Legislation and labelling*, in *Rancidity In Foods*. 1994: Blackie Academic & Professional. p. 203-221.
31. CAC, *Código de práticas internacionais recomendadas*. 2003, Comissão do Codex Alimentarios: CAC/RCP.
32. ASAE. *HACCP* 2007 [cited 2014 26-11-2014]; Available from: <http://www.asae.pt/pagina.aspx?back=1&codigono=54105579AAAAAAAAAAAAAAAAAAAA>.
33. Alves, P.B.G.P.P. *Sistemas de gestão de segurança alimentar*. 2003.
34. J . Stanleycobb, B.F.P., *General Biology*, in *The Biology and Management of Lobsters*. 1980, ACADEMIC PRESS. p. 16 - 25.
35. Phillips, B.F., *Palinurus Species*, in *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. 2006, Blackwell Publishing Ltd. p. 385 - 406.
36. Phillips, B.F., *Palinurus Species*, in *Lobsters: Biology, Management, Aquaculture and Fisheries*. 2013, John Wiley & Sons, Ltd. p. 326 - 349.
37. Holthuis, L.B., *FAO Species Catalogue*, in *Marine Lobsters of the World*, F.a.A.O.o.T.U. Nations, Editor. 1991, FAO: Rome.
38. Indobase. *Lobster Nutrition Facts*. 2013 [cited 2013 28-12-2013]; Available from: <http://nutrition.indobase.com/articles/lobster-nutrition.php>.
39. Nast, C. *Nutrition Facts*. 2013 [cited 2013 28-12-2013]; Available from: <http://nutritiondata.self.com/facts/finfish-and-shellfish-products/4170/2#ixzz2p0JzUyZN>.
40. Sardà, G.R.K.A.M.D.F., *Elemental and biochemical composition of Nephrops norvegicus (Linnaeus 1758) larvae from the Mediterranean and Irish Seas*. Helgoland Marine Research, 2004. **58**(3): p. 206-210.
41. Rosa, R. and M.L. Nunes, *Biochemical changes during the reproductive cycle of the deep-sea decapod Nephrops norvegicus on the south coast of Portugal*. Marine Biology, 2002. **141**(6): p. 1001-1009.
42. García-Soto, B., et al., *Quality changes during the frozen storage of the crustacean lobster krill (Munida spp.)*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2014.
43. Encarnacion, A.B., et al., *Effects of Ergothioneine from Mushrooms ( Flammulina velutipes ) on Melanosis and Lipid Oxidation of Kuruma Shrimp ( Marsupenaeus japonicus )*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010. **58**(4): p. 2577-2585.
44. Ashie, I.N.A., J.P. Smith, and B.K. Simpson, *Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1996. **36**(1-2): p. 87-121.
45. Bartolo, I. and E.O. Birk, *Some factors affecting Norway lobster (Nephrops norvegicus) cuticle polyphenol oxidase activity and blackspot development*. International Journal of Food Science and Technology, 1998. **33**(3): p. 329-336.
46. Williams, H.G., J. Mamo, and G.W. Davidson, *Polyphenoloxidase and Its Thermal Deactivation in Western Rock Lobster (Panulirus cygnus) Processing*. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2007. **16**(1): p. 87-102.
47. Williams, H.G., G.W. Davidson, and J.C. Mamo, *Heat-induced activation of polyphenoloxidase in western rock lobster (Panulirus cygnus) hemolymph: Implications for heat processing*. Journal of Food Science, 2003. **68**(6): p. 1928-1932.
48. Martinez-Alvarez, O.L.-C.M.E.M.P.G.-G.M.C., *Spraying of 4-hexylresorcinol based formulations to prevent enzymatic browning in Norway lobsters (Nephrops norvegicus) during chilled storage*. Food Chemistry, 2007. **100**(1): p. 147-155.
49. Gómez-Guillén, B.G.Ó.M.-A.P.M.M.d.C., *Characterization of phenoloxidase activity of carapace and viscera from cephalothorax of Norway lobster (Nephrops norvegicus)*. Lwt-Food Science and Technology, 2010. **43**(8): p. 1240-1245.
50. Whitaker, J.R., A.G.J. Voragen, and D.W.S. Wong, *Applications of Oxidoreductases in Foods*, in *Handbook of Food Enzymology*. 2003, Marcel Dekker, Inc. p. 177 - 178.
51. Queiroz, C.M.L., Maria Lucia; and E.V.-M. Fialho, Vera Lucia;, *Polyphenol oxidase: Characteristics and mechanisms of browning control*. Food Reviews International, 2008. **24**(4): p. 361-375.
52. Nirmal, N.P. and S. Benjakul, *Effect of ferulic acid on inhibition of polyphenoloxidase and quality changes of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) during iced storage*. Food Chemistry, 2009. **116**(1): p. 323-331.
53. Nirmal, N.P. and S. Benjakul, *Inhibition of melanosis formation in Pacific white shrimp by the extract of lead (Leucaena leucocephala) seed*. Food Chemistry, 2011. **128**(2): p. 427-432.
54. García-Carreño, F.L. *The Digestive Proteases of Lagostina (Pleuroncodes Planipes, Decapoda): their partial characterization, and the effect of feed on their composition*. 1992. **103B**, 575-578.

55. García-Carreño, F.L. and N.F. Haard, *Characterization of proteinase classes in langostilla (Pleuroncodes planipes) and crayfish (Pacifastacus astacus) extracts*. Journal of Food Biochemistry, 1993. **17**(2): p. 97-113.
56. Haard, N., *Protein hydrolysis in seafoods*, in *Seafoods: Chemistry, processing technology and quality*. 1994, Springer. p. 10-33.
57. García-Carreño, F., *Proteases in food technology*. Biotechnology Education, 1991. **2**(4): p. 150-153.
58. Knorr D, S.A.J., *Biotechnology in food production and processing*. 1985, Science 229.
59. Gibson R., B.P. *The decapod heptopancreas*. 1979 **17**, 285-346.
60. Zwilling R., N.H., Woodbury R., *Crayfish trypsin: Missing link between procaryote and mammalian serine proteases.*, in *Protides in Biological Fluids*, e. H. Peeters, Editor. 1980, Pergamon Press: Oxford. p. 115-118.
61. Zwilling, R.D., H.; Torff, Hans-Joachim; Rödl, Josef, *Low molecular mass protease: evidence for a new family of proteolytic enzymes*. FEBS letters, 1981. **127**(1): p. 75-78.
62. Laura E. Celis-Guerrero, F.L.G.-C., M. Angeles Navarrete del Toro *Characterization of Proteases in the Digestive System of Spiny Lobster (Panulirus interruptus)*. 2004. DOI: 10.1007/s10126-003-0032-6.
63. Brockerhoff, H., R. Hoyle, and P. Hwang, *Digestive enzymes of the American lobster (Homarus americanus)*. Journal of the Fisheries Board of Canada, 1970. **27**(8): p. 1357-1370.
64. Hoyle, R., *Digestive enzyme secretion after dietary variation in the American lobster (Homarus americanus)*. Journal of the Fisheries Board of Canada, 1973. **30**(11): p. 1647-1653.
65. Galgani, F. and F. Nagayama, *Digestive proteinases in the Japanese spiny lobster Panulirus japonicus*. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 1987. **87**(4): p. 889-893.
66. W'sowicz, E., et al., *Oxidation of lipids in food*. Pol J Food Nutr Sci, 2004. **13**: p. 87-100.
67. Encarnacion, A.B., et al., *Novel Approach for Controlling Lipid Oxidation and Melanosis in Aquacultured Fish and Crustaceans: Application of Edible Mushroom (Flammulina Velutipes) Extract In Vivo*. 2012: INTECH Open Access Publisher.
68. John C. Allen, R.J.H., *The chemistry of rancidity in foods*, in *Rancidity in Foods*, B.A. Professional, Editor. 1994. p. 1-21.
69. John C. Allen, R.J.H., *Nutritional aspects of rancidity*, in *Rancidity in Foods*, B.A. Professional, Editor. 1994. p. 128-140.
70. H. D. Belitz, W.G., Peter Schieberle, *Carbohydrates*, in *Food Chemistry*, Springer, Editor. 2009: Berlin. p. 248-337.
71. John C. Allen, R.J.H., *Rancidity in meats*, in *Rancidity in Foods*, B.A. Professional, Editor. 1994: London. p. 191-202.
72. H. D. Belitz, W.G., Peter Schieberle, *Lipids*, in *Food Chemistry*. 2009, Springer: Berlin. p. 158-247.
73. Venugopal, V., *Postharvest Quality Changes and Safety Hazards*, in *Seafood processing: adding value through quick freezing retortable packaging and cook-chilling*, L. Taylor & Francis Group, Editor. 2006. p. 23-60.
74. Y. H. Hui, Y.H.H., Isabel Guerrero Legarretta, Miang Hoong Lim, K.D. Murrell, Wai-Kit Nip, *Frozen Seafoods*, in *Handbook of Frozen Foods*. 2004, CRC Press: New york. p. 318-321.
75. Kurade, S.A. and J.D. Baranowski, *Prediction of Shelf-Life of Frozen Minced Fish in Terms of Oxidative Rancidity as Measured by TBARS Number*. Journal of Food Science, 1987. **52**(2): p. 300-302.
76. Fernández-Bolaños, J., et al., *Activity of cell wall-associated enzymes in ripening olive fruit*. Physiologia Plantarum, 1995. **93**(4): p. 651-658.
77. Saraiva, J., et al., *Effect of High Pressure Treatments on protease and  $\beta$ -Galactosidase Activities of Table Olives*. High Pressure Research, 2002. **22**(3-4): p. 669-672.
78. Robert Beynon, J.S.B., *Proteolytic enzymes*. 1996, Oxford: University Press Oxford.
79. Cardoso, S.M., et al., *Traditional and industrial oven-dry processing of olive fruits: influence on textural properties, cell wall polysaccharide composition, and enzymatic activity*. European Food Research and Technology, 2009. **229**(3): p. 415-425.
80. Cardoso, S.M., et al., *Naturally fermented black olives: Effect on cell wall polysaccharides and on enzyme activities of Taggiasca and Conservolea varieties*. LWT - Food Science and Technology, 2010. **43**(1): p. 153-160.
81. L. M.L. Nollet and F. Toldrá, *Analysis of Rendered Fats in Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products*, T.F. Group, Editor. 2011, Taylor & Francis Group: Florida. p. 37-42.

82. B. Barriuso, I. Astiasara, and D. Ansorena, *A review of analytical methods measuring lipid oxidation status in foods: a challenging task*. European Food Research and Technology, 2013(236): p. 1-15.
83. Laguerre, M., J. Lecomte, and P. Villeneuve, *Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges*. Progress in Lipid Research, 2007. **46**(5): p. 244-282.
84. W., L.D. *An improved TBA test for rancidity*. 1975. 1-4.
85. Vyncke, W., *Direct Determination of the Thiobarbituric Acid Value in Trichloroacetic Acid Extracts of Fish as a Measure of Oxidative Rancidity*. Fette, Seifen, Anstrichm., 1970. **72**(12): p. 1084–1087.
86. Sun, D.W., *Heat and Mass Transfer in Thermal Food Processing*, in *Thermal Food Processing: New technology And Quality Issues*. 2006: Taylor & Francis Group. p. 36.
87. Ireland, A.o. *Temperature Control - cooking*. 2013; Available from: [http://www.fsai.ie/faqs/temperature\\_control.html](http://www.fsai.ie/faqs/temperature_control.html).
88. FDA. *Safe cooking temperatures as measured with a food thermometer*. 2014 [cited 2014; Available from: [www.fda.gov/downloads/Food/.../UCM260394.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Food/.../UCM260394.pdf).
89. Gov, F.S. *Charts: Food Safety at a Glance*. 2014; Available from: <http://www.foodsafety.gov/keep/charts/mintemp.html>.
90. FDA *Modernization - A Focus on Safety*. Guidance and Regulation, 2005. 1-14.
91. Sun, D.W., *Thermal Processing of Poultry Products*, in *Thermal Food Processing*, T.F. Group, Editor. 2006: London. p. 197-234.



## **Anexo A - Mapa das Instalações da Centralrest, Lda.**

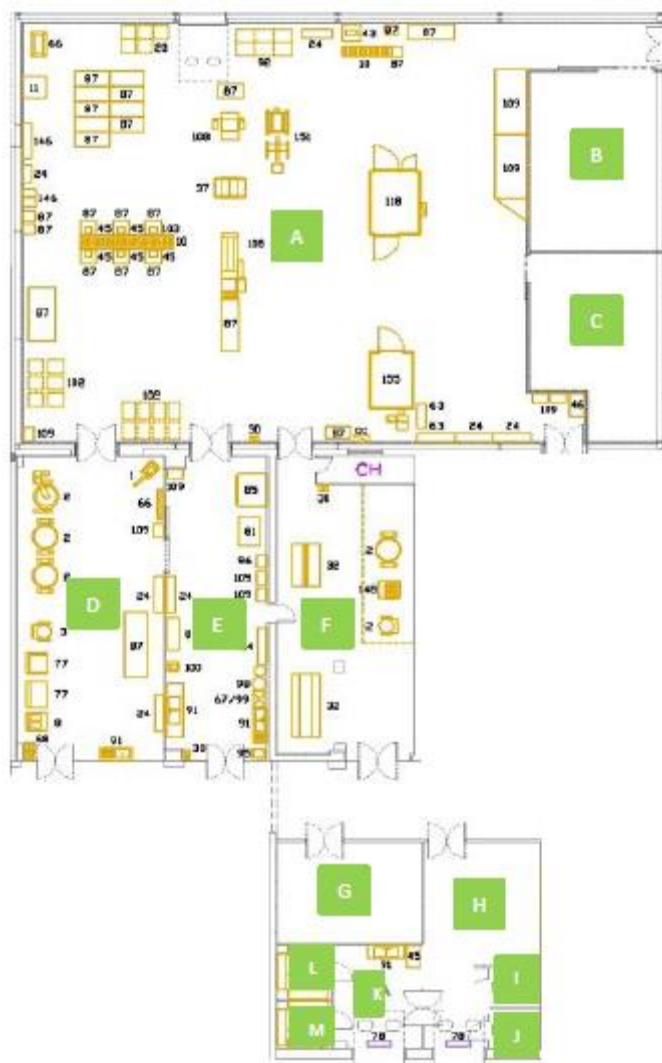


Figura A.1 Mapa do local de produção Centralrest Lda: (A) Zona de embalagem, pasteurização e arrefecimento; (B) Armazém de cartão e embalagens; (C) Câmara de produto final pasteurizado; (D e F) Cozinhas; (E) Zona de preparação; (G) Câmara de refrigerados em trânsito; (H) Economato; (I) Câmara de matéria-prima congelada; (J) Câmara de matéria-prima refrigerada; (L) Economato e (M) – Economato.

## Anexo B - Refeições Prontas, pasteurizadas e ultracongeladas produzidas pela Centralrest, Lda.

Tabela B.1 Refeições produzidas na Centralrest, Lda

Grupo	Tipo de Produto	Designação da Refeição pronta	Código atribuído
1	Origem vegetal e à base de vegetais	Caldo verde	CALVERDE
		Creme de Alho Francês	CREFRAN
		Creme de Cenoura	CRECEN
		Sopa Campestre	SOPCAMP
		Sopa de Feijão-verde	SOPFEIJ
		Arroz de Ervilhas	ARROZER
		Arroz Vaporizado	ARROZVAP
		Arroz Doce	ARROZDO
		Arroz de Cenoura	ARROZCE
		Massa Fuzilli c/ cogumelos	MASSFUZI
2	À base de Carne	Arroz de Pato	ARROZPA
		Almondegas	AL
		Almondegas c/ Arroz Branco	ALARROZ
		Carne à Bolonhesa	CARBOLONH
		Moelas	MOEL
		Lombo de Porco assado c/ ameixas, castanhas	LOAMACAS
		Lombo de Porco assado c/ puré de maçã	LOPUMACA
		Macarrão de Carne	MACACARN
		Empadão de Carne	EMPCAR
		Dobrada	DOBRAD
		Mão de Vaca c/ Grão	MVGRAO
		Feijoada à Transmontana	FEIJTRANS
		Vitela à Primavera	VITPRIM
		Lasanha de Carne	LASCAR
		Strogonoff Carne	STROG
		Frango CCB	FRCCB
		Bifinhos de Porco c/ Natas	BIFPONA
		Costeletas de Cebolada	COSCEB
		Perna frango assada	PERNFRA
3	À base de Peixe	Espetadas de Frango c/ Arroz de Ervas	ESPETFRA
		Favas com Entrecosto	FAVENT
		Francesinha de Porco	FRANCPOR
		Francesinha de Vaca	FRANCVAC
		Bacalhau c/ Natas	BACNA
		Bacalhau c/ Natas e camarão	BACNAC
		Lasanha de Bacalhau	LASBAC
		Empadão de Atum	EMPATUM
		Arroz de Gambas	ARROZGA
		Arroz de Polvo	ARROZPO
		Caril de Gambas c/ Arroz	CARIL

Choquinhos à Algarvia	CHOCALG
Feijoada de Chocos	FEIJCHOC
Lulas Estufadas	LULEST
Posta de Pescada assada no forno	POSTPESC
Pescada assada no forno c/ Arroz de Feijão	PESCFEIJ
Pota Recheada	PORECH
Polvo à Lagareiro	POLLAG
Bacalhau à Brás	BACBRAS

## Anexo C - Sumários dos registos dos binómios (t, T) da confeção

Tabela C.1 Número de registos e temperaturas de confeção finais registados na formulação de várias refeições prontas.

Codificação	Número de Registos	Temperatura média final (°C)
ARROZER	3	87,5 ± 4,1
ARROZVAP	7	90,3 ± 3,7
ARROZDO	3	89,3 ± 4,4
ARROZCE	5	85,4 ± 3,1
ARROZPA I	25	87,9 ± 3,8
ARROZPA II	25	89,6 ± 3,0
ARROZGA	3	88,6 ± 2,2
ARROZPO	1	87,2 ± 0,0
AL	4	87,6 ± 4,6
ALARROZ I	3	82,6 ± 3,6
ALARROZ II	3	84,9 ± 3,4
BACNA	26	82,4 ± 3,8
BACNAC	18	81,3 ± 3,7
BACBRAS	21	88,0 ± 3,6
BIFPONA I	5	80,3 ± 4,6
BIFPONA II	5	90,3 ± 2,6
CALVERDE	14	91,6 ± 2,5
CARBOLONH	3	89,9 ± 2,0
CARIL I	6	90,1 ± 3,4
CARIL II	6	90,7 ± 4,0
COSCEB I	8	80,3 ± 4,4
COSCEB II	8	83,8 ± 3,4
CREFRAN	9	88,6 ± 3,8
CRECEN	12	89,5 ± 4,9
CHOCALG	12	87,5 ± 3,6
DOBRAD I	6	88,3 ± 1,8
DOBRAD II	6	85,4 ± 5,6
EMPATUM I	5	87,3 ± 3,6
EMPATUM II	5	82,8 ± 3,9
EMPCAR I	2	87,2 ± 1,1
EMPCAR II	2	83,0 ± 3,9
ESPETFRA I	5	80,0 ± 4,1
ESPETFRA I	5	85,3 ± 3,6
FAVENT I	6	86,9 ± 4,1
FAVENT II	6	86,4 ± 4,5
FEIJCHOC I	4	87,4 ± 4,2

<b>FEIJCHOC II</b>	4	88,4 ± 2,0
<b>FEIJTRANS I</b>	20	87,4 ± 2,7
<b>FEIJTRANS II</b>	20	88,8 ± 2,5
<b>FRANCPOR I</b>	6	81,1 ± 5,2
<b>FRANCPOR II</b>	6	89,1 ± 3,4
<b>FRANCVAC</b>	4	83,4 ± 6,2
<b>FRCCB I</b>	5	84,8 ± 0,4
<b>FRCCB II</b>	5	87,6 ± 5,1
<b>LASCAR I</b>	10	86,6 ± 4,6
<b>LASCAR II</b>	10	88,7 ± 5,5
<b>LASBAC I</b>	4	85,3 ± 3,2
<b>LASBAC II</b>	4	86,4 ± 5,9
<b>LULEST</b>	5	90,7 ± 3,3
<b>LOAMACAS I</b>	5	86,3 ± 3,2
<b>LOAMACAS II</b>	4	84,3 ± 5,8
<b>LOPUMACA</b>	1	86,9 ± 0,0
<b>MACACARN I</b>	1	84,4 ± 0,0
<b>MACACARN II</b>	1	77,8 ± 0,0
<b>MACACARN III</b>	1	75,8 ± 0,0
<b>MOEL</b>	8	90,3 ± 2,0
<b>POSTPESC</b>	9	87,7 ± 4,2
<b>PESCFEIJ I</b>	2	89,5 ± 5,3
<b>PESCFEIJ II</b>	2	85,9 ± 4,6
<b>PORECH</b>	9	87,7 ± 2,0
<b>POLLAG I</b>	9	88,0 ± 3,4
<b>POLLAG II</b>	4	87,6 ± 3,6
<b>PERNFRA</b>	5	91,4 ± 3,9
<b>SOPCAMP</b>	19	91,6 ± 3,3
<b>SOPFEIJ</b>	13	90,9 ± 2,6
<b>STROG</b>	5	87,4 ± 2,7
<b>VITPRIM</b>	6	88,5 ± 4,2

## Anexo D - Arrefecimento de produtos ultracongelados

Tabela D.1: Produtos para os quais foi recolhidos registos do abatimento de temperatura para produtos congelados.

Produto	Número de registos	Temperatura média Inicial (°C)	Tempo médio de permanência entre 60 e 10 °C (h)	Tempo médio que demora a atingir os 10 °C (h)
Caldo verde	3	71,2 ± 8,0	2,77 ± 0,7	3,9 ± 0,8
Creme de Legumes	2	62,3 ± 2,1	3,18 ± 0,4	3,4 ± 0,3
Creme de Alho Francês	1	85,5 ± 0,0	1,85 ± 0,0	3,2 ± 0,0
Creme de Cenoura	1	23,3 ± 0,0	-	2,0 ± 0,0
Sopa Campestre	2	65,7 ± 8,6	2,65 ± 0,0	2,7 ± 0,7
Sopa de Feijão-verde	1	60,1 ± 0,0	2,07 ± 0,0	2,1 ± 0,0
Arroz de Ervilhas	1	47,5 ± 0,0	-	3,1 ± 0,0
Massa Fuzilli c/ cogumelos	1	16,2 ± 0,0	-	1,2 ± 0,0
Arroz de Pato	2	42,2 ± 1,3	-	2,9 ± 0,3
Almondegas	1	61,5 ± 0,0	1,23 ± 0,0	1,4 ± 0,0
Moelas	1	74,0 ± 0,0	2,61 ± 0,0	3,4 ± 0,0
Lombo assado c/ puré de maçã	1	13,2 ± 0,0	-	1,6 ± 0,0
Macarrão de Carne	1	51,5 ± 0,0	-	2,5 ± 0,0
Empadão de Carne	2	45,6 ± 6,7	-	3,0 ± 0,1
Mão de Vaca c/ grão	1	41,4 ± 0,0	-	0,8 ± 0,0
Feijoada à Transmontana	2	38,2 ± 8,1	-	2,5 ± 0,6
Vitela à Primavera	1	37,1 ± 0,0	-	1,3 ± 0,0
Lasanha de Carne	1	65,8 ± 0,0	3,78 ± 0,0	4,5 ± 0,0
Bifinhos de Porco c/ Natas	2	27,7 ± 5,6	-	2,4 ± 0,1
Costeletas de Cebolada	1	40,8 ± 0,0	-	2,3 ± 0,0
Perna frango assada	1	53,0 ± 0,0	-	1,0 ± 0,0
Frango CCB	3	55,6 ± 10,0	-	3,1 ± 0,7
Bacalhau c/ Natas	3	47,6 ± 8,8	-	2,6 ± 0,6
Bacalhau c/ Natas e camarão	1	47,5 ± 0,0	-	2,1 ± 0,0
Empadão de Atum	1	23,4 ± 0,0	-	1,2 ± 0,0
Lulas Estufadas	1	51,5 ± 0,0	-	4,0 ± 0,0

Tabela D.2 Caracterização do abatimento de temperatura dos produtos ultracongelados: tempo médio de permanência entre 10 e 60 °C; Tempo médio de permanência entre 0 e -18 °C; Tempo médio total da congelação.

Produto	Tempo médio de congelação [entre 0 e -2 °C] (h)	Tempo médio de congelação [-1 e -2 °C] (h)	Tempo médio total da congelação [até -18 °C] (h)
Caldo verde	5,3 ± 0,8	0,9 ± 0,6	12,8 ± 2,0
Creme de Legumes	1,7 ± 0,6	0,8 ± 0,4	11,8 ± 1,0
Creme de Alho Francês	0,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	9,3 ± 0,0
Creme de Cenoura	6,6 ± 0,0	4,6 ± 0,0	15,8 ± 0,0
Sopa Campestre	2,1 ± 0,1	1,3 ± 0,0	9,3 ± 3,0
Sopa de Feijão-verde	1,2 ± 0,0	0,3 ± 0,0	7,3 ± 0,0
Arroz de Ervilhas	2,3 ± 0,0	1,8 ± 0,0	10,8 ± 0,0
Massa Fuzilli c/ cogumelos	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	6,6 ± 0,0
Arroz de Pato	1,0 ± 0,4	0,6 ± 0,3	10,3 ± 0,1
Almondegas	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	-
Moelas	2,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0	12,3 ± 0,0
Lombo assado c/ puré de maçã	0,3 ± 0,0	0,2 ± 0,0	9,3 ± 0,0
Macarrão de Carne	0,4 ± 0,0	0,2 ± 0,0	24,0 ± 0,0
Empadão de Carne	1,9 ± 1,1	1,2 ± 0,7	12,1 ± 1,8
Mão de Vaca c/ grão	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	6,4 ± 0,0
Feijoada à Transmontana	1,3 ± 1,0	1,0 ± 0,9	13,1 ± 2,0
Vitela à Primavera	0,2 ± 0,0	0,1 ± 0,0	6,1 ± 0,0
Lasanha de Carne	2,8 ± 0,0	2,2 ± 0,0	16,6 ± 0,0
Bifinhos de Porco c/ Natas	0,7 ± 0,3	0,5 ± 0,3	10,7 ± 0,5
Costeletas de Cebolada	0,6 ± 0,0	0,3 ± 0,0	10,9 ± 0,0
Perna frango assada	0,1 ± 0,0	0,1 ± 0,0	4,0 ± 0,0
Frango CCB	2,8 ± 2,2	2,2 ± 1,9	13,0 ± 1,8
Bacalhau c/ Natas	1,1 ± 0,9	0,9 ± 0,8	10,5 ± 2,8
Bacalhau c/ Natas e camarão	2,1 ± 0,0	1,0 ± 0,6	14,0 ± 0,0
Empadão de Atum	0,3 ± 0,0	0,1 ± 0,0	22,0 ± 0,0
Lulas Estufadas	2,9 ± 0,0	2,1 ± 0,0	13,4 ± 0,0

# Anexo E - Exemplo Procedimento de Operação

## PROCEDIMENTO DE OPERAÇÃO



### Produção de Sopa Campestre

#### 1. OBJETIVO

Descrever e definir as condições de fabrico e controlo de fabrico da Sopa Campestre.

#### 2. PREPARAÇÃO DOS INGREDIENTES

##### 2.1. Creme

2.1.1. Laminar a cebola no laminador Halldé, com lâmina 10.

2.1.2. Descascar a cenoura, com descascador universal, retirar as extremidades, higienizar laminar no laminador Halldé, com lâmina 10.

2.1.3. Pesagem dos ingredientes segundo a formulação.

##### 2.2. Guarnição

2.2.1. Descascar a cenoura, com descascador universal, retirar as extremidades, higienizar e ralar no laminador Halldé com lâmina de ralar mais pequena.

2.2.2. Cortar manualmente a couve em 8 partes e à camponesa (quadrados pequenos), higienizar posteriormente.

#### 3. CONFEÇÃO DA SOPA

3.1. Abrir a torneira de fornecimento de vapor da marmitta a vapor para iniciar o aquecimento da mesma e colocar a água.

3.2. Colocar o azeite, a batata, a cebola, a cenoura e o sal.

3.3. Deixar ferver durante uns minutos.

3.4. Fechar a torneira de fornecimento de vapor.

3.5. Triturar com triturador Electrolux durante até obter um creme sem grumos.

3.6. Abrir a torneira de fornecimento de vapor da marmitta novamente.

3.7. Colocar a cenoura ralada e a couve cortada à camponesa e deixar ferver.

3.8. Parar o aquecimento da marmitta.

3.9. Retirar a sopa para carros em inox.

#### 4. EMPRATAMENTO

Embalagem	Quantidade (kg)	Tipo de Processamento
Saco asséptico PA/PEHD 300 x 450	2,500	Pasteurização Congelação
Saco asséptico PA/PEHD 400 x 450	5,000	Pasteurização
Cuvete PP incolor 500 cc (Mod. 5096 Clear/Taça Roma)	0,390	Pasteurização Refrigeração
Cuvete PP incolor 500 cc (Mod. 5096 Clear/Taça Roma)	0,300	Congelação
Cuvete PP incolor 500 cc (Mod. Taça sopa infantil)	0,150	Pasteurização

Código	Edição nº	Data	Preparado por	Aprovado por	Página
PO.110	1			Margarida Carmo	1/1



## Anexo F - Base de dados UPs

Tabela F.1 Base de dados fornecidos pela ILPRA systems Spain, adaptado.

Temperatura (°C)	U.P./min	Temperatura (°C)	U.P./min	Temperatura (°C)	U.P./min
50	0,010	67	0,501	84	25,119
51	0,012	68	0,631	85	31,622
52	0,016	69	0,794	86	39,810
53	0,020	70	1,000	87	50,118
54	0,025	71	1,259	88	63,095
55	0,031	72	1,585	89	79,433
56	0,040	73	1,995	90	100,000
57	0,050	74	2,512	91	125,892
58	0,063	75	3,162	92	158,489
59	0,079	76	3,981	93	199,526
60	0,100	77	5,012	94	251,188
61	0,126	78	6,309	95	316,227
62	0,158	79	7,943	96	398,107
63	0,200	80	10,000	97	501,187
64	0,251	81	12,589	98	630,957
65	0,316	82	15,849	99	794,328
66	0,398	83	19,952	100	1000

### Definição do binómio (t,T) para a Estufa Eléctrica

Considerando  $z=10$  e 1000 U.P. equivalente a 1000 minutos a 70 °C, sabemos que a taxa de letalidade (L) para 70 e 85 °C serão respetivamente:

$$L_{70} = 1000 \times 10^{(70-60)/10}$$

$$L_{85} = t \times 10^{(85-60)/10}$$

Para que o tratamento seja equivalente as taxas terão que ser iguais. Ou seja, para  $L_{70} = L_{85}$  temos  $t = 31,62 \text{ min} \approx 32 \text{ min}$ .

## Anexo G - Número de reduções decimais atingidas nas várias refeições estudadas

Tabela G.1 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 5,0kg e 2,5kg estudadas.

Lote número	<u>Bacalhau c/ Natas</u>	<u>Creme de Alho Francês</u>	<u>Creme de Cenoura</u>
	<u>5,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>2,5kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>2,5kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)
1	11,21	6,57	8,35
2	11,22	6,85	6,44
3	11,52	7,37	8,05
4	12,18	8,42	6,65
5	11,52	6,46	6,99
6	11,24	-	6,61
7	10,11	-	7,46
8	7,69	-	6,45
9	13,85	-	-
10	10,50	-	-
11	8,55	-	-
12	10,32	-	-
13	8,97	-	-
14	13,85	-	-
15	13,11	-	-
16	12,17	-	-
17	11,81	-	-
18	12,87	-	-
19	11,49	-	-
20	9,00	-	-

Tabela G.2 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 2,0kg.

Lote número	<u>Lasanha de Carne</u>	<u>Moelas de Frango</u>	<u>Almôndegas</u>	<u>Bacalhau c/ Natas</u>
	<u>2,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>2,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>2,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>2,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)
1	9,10	18,68	9,10	10,50
2	6,60	7,94	6,60	7,48
3	8,22	7,85	8,22	8,03
4	7,33	9,80	7,33	6,15
5	10,93	6,87	10,93	8,30
6	7,70	-	7,70	7,65
7	7,95	-	7,95	7,78
8	-	-	-	8,22
9	-	-	-	7,48
10	-	-	-	8,11
11	-	-	-	10,81
12	-	-	-	7,21

Tabela G.3 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 1,0kg estudadas.

Lote número	<u>Lasanha de Carne</u>	<u>Almôndegas</u>
	<u>1,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>1,0kg</u> Log (N <sub>0</sub> /N)
1	18,67	8,53
2	16,82	8,86
3	20,97	-

Tabela G.4 Número de reduções decimais atingidas com o programa definido pela Centralrest, Lda nas refeições de 300g estudadas.

Lote número	<u>Creme de Cenoura</u>	<u>Bacalhau c/ Natas</u>	<u>Arroz de Pato</u>	<u>Bacalhau à Brás</u>
	<u>300g</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>300g</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>300g</u> Log (N <sub>0</sub> /N)	<u>300g</u> Log (N <sub>0</sub> /N)
1	9,18	7,31	7,69	6,47
2	8,27	6,97	7,58	6,22
3	8,23	7,86	8,07	7,47
4	9,67	7,21	-	-
5	10,35	7,54	-	-
6	-	8,57	-	-
7	-	9,69	-	-
8	-	8,27	-	-
9	-	8,42	-	-
10	-	7,73	-	-
11	-	7,68	-	-
12	-	8,12	-	-
13	-	7,78	-	-

## Anexo H - Aspetto das amostras de Lagosta utilizadas para a análise enzimática



Figura H.1: Aspetto inicial da Lagosta crua, cortada e congelada.



Figura H.2: Aspetto das Lagostas utilizadas no processamento A: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita).



Figura H.3: Aspetto das Lagostas utilizadas no processamento A [descongelada]: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita).



Figura H.4: Aspetto das Lagostas utilizadas no processamento B: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita).





Figura H.5: Aspeto das Lagostas utilizadas no processamento B [Descongelada]: antes do processamento (esquerda); após o processamento (direita).



Figura H.6: Empratamento: Processamento A (esquerda) e Processamento A [Descongelada].



Figura H.7: Empratamento: Processamento B (esquerda) e Processamento B [Descongelada].

# Anexo I - Resultados da Análise Enzimática

Tabela I.1 Resultados da atividade proteolítica relativa (%) das várias amostras.

	Atividade relativa (%) <u>Abdómen</u>	Atividade relativa (%) <u>Cefalotórax</u>
Lagosta Crua	12,1 ± 0,1	87,9 ± 0,5
Processamento A	7,9 ± 0,0	14,5 ± 0,0
Processamento A [descongelada]	5,3 ± 0,0	41,9 ± 0,1
Processamento B	3,9 ± 0,0	8,3 ± 0,0
Processamento B [descongelada]	8,4 ± 0,6	13,9 ± 0,2

Tabela I.2 Resultados da atividade relativa da PPO (%) das diferentes amostras.

	Atividade relativa (%) <u>Abdómen</u>	Atividade relativa (%) <u>Cefalotórax</u>
Lagosta Crua	45,3 ± 5,1	54,7 ± 3,8
Processamento A	13,1 ± 0,3	18,5 ± 1,5
Processamento A [Descongelada]	14,9 ± 0,7	21,5 ± 1,7
Processamento B	11,5 ± 0,6	15,8 ± 0,5
Processamento B [Descongelada]	12,9 ± 0,8	17,6 ± 0,6

## **Anexo J - Aspeto das amostras de lagosta utilizadas para a determinação do teor de MDA**



Figura J.1: Lagosta Crua cortada e descongelada [lote Crest].



Figura J.2: Lagosta Crua inteira e descongelada [novo lote].

## Anexo K - Resultados da determinação do teor de MDA

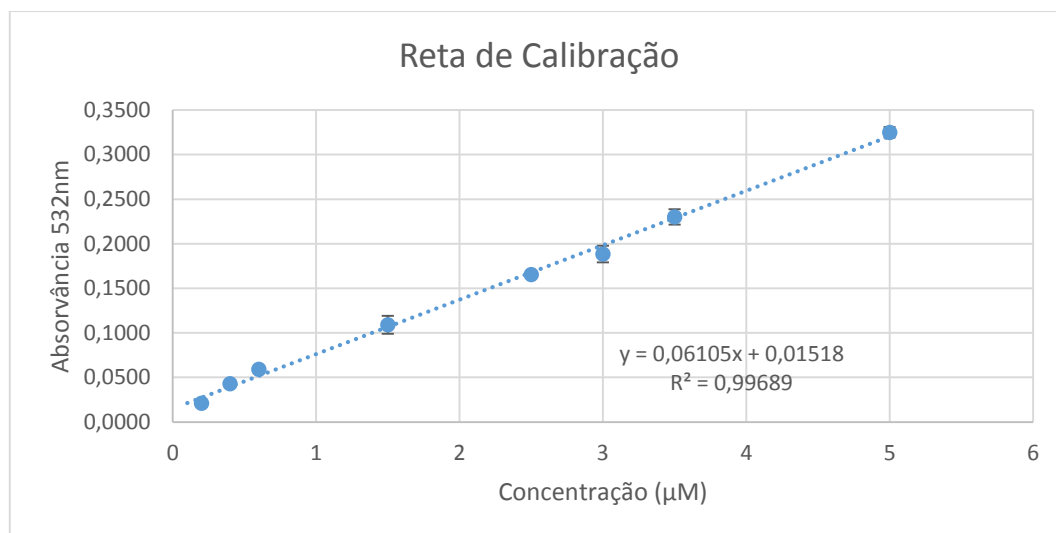


Figura K.1: Reta de calibração usada na determinação da concentração do teor de malonaldeído.

Tabela K.1 Concentração de MDA, no abdómen e no cefalotórax, do novo lote e Crest lote.

	Concentração MDA (g/kg)	Concentração MDA (g/kg)
	<u>Abdómen</u>	<u>Cefalotórax</u>
Lagosta Crua [Crest Lote]	0,37230 ± 0,01765	0,51148 ± 0,13269
Lagosta Crua [Novo Lote]	0,10414 ± 0,00742	0,13180 ± 0,01705



# Anexo L - Folha de Prova



## RESULTADOS ORGANOLÉPTICOS DE CONCEPÇÃO E DESENVOLVIMENTO

<b>OBJECTIVO</b>	Análise Sensorial para avaliar a aceitabilidade entre amostras com diferentes tempos de preparação e/ou tratamento térmico
<b>PRODUTO</b>	Lagosta Selvagem em Azeite Virgem

### RESULTADOS / OPINIÕES

NOME DO PROVADOR:

Características Sensoriais	Codificação da Amostra:	Codificação da Amostra:
Cor		
Sabor		
Textura		
Cheiro		
Aceitação Global		

ESCALA:

- 1 – Desgostei Muitíssimo
- 2 – Desgostei Muito
- 3 – Desgostei Moderadamente
- 4 – Desgostei Ligeiramente
- 5 – Nem Gostei nem Desgostei
- 6 – Gostei Ligeiramente
- 7 – Gostei Moderadamente
- 8 – Gostei Muito
- 9 – Gostei Muitíssimo

Características Sensoriais	Codificação da Amostra:	Codificação da Amostra:
Cor		
Sabor		
Textura		
Cheiro		
Aceitação Global		

ESCALA:

- 1 – Desgostei Muitíssimo
- 2 – Desgostei Muito
- 3 – Desgostei Moderadamente
- 4 – Desgostei Ligeiramente
- 5 – Nem Gostei nem Desgostei
- 6 – Gostei Ligeiramente
- 7 – Gostei Moderadamente
- 8 – Gostei Muito
- 9 – Gostei Muitíssimo

OBSERVAÇÕES DO PROVADOR:

DATA: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

RÚBRICA: \_\_\_\_\_

## Anexo M - Resultados da análise sensorial

Tabela M.1: Resultados da análise sensorial realizada: caracterização das características sensoriais das diferentes amostras.

Caraterísticas Sensoriais	Processamento A	Processamento A [Descongelada]	Processamento B	Processamento B [Descongelada]
Cor	2	1	2	2
	1	1	2	2
	2	2	1	2
	1	1	2	1
	3	2	4	2
	4	3	3	2
	5	5	4	4
Sabor	2	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	3	2	3	2
	3	2	3	2
	6	5	5	4
Textura	2	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	4	1	4	1
	4	2	4	2
	5	5	5	4
Cheiro	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	2	2	3	2
	2	2	2	1
	6	5	4	5
Aceitação Global	2	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	3	2	3	2
	3	2	3	2
	6	5	4	4